

# EFOP-3.6.2-16-2017-00006 KONZORCIÁLIS PÁLYÁZAT MEGVALÓSULÁSÁNAK BEMUTATÁSA

---



SZERKESZTŐK:  
DR. KISS LÓRÁND  
DR. RAKONCZAY ZOLTÁN

2020

SZÉCHENYI 2020



Európai Unió  
Európai Szociális  
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

EFOP-3.6.2-16-2017-00006  
megvalósulásának bemutatása

konzorciális

pályázat

Szerkesztők: Dr. Kiss Lóránd, Dr. Rakonczay Zoltán

Szerzők:

Dr. Balla József (DE)

Dr. Kiss Lóránd (SZTE)

Dr. Balatoni Ildikó (DE)

Dr. Rakonczay Zoltán (SZTE)

Dr. Balaskó Márta (PTE)

Dr. Varga Gábor (SE)

Dr. Hegyi Péter (PTE)

Dr. Kerémi Beáta (SE)

Kiadó: Szegedi Tudományegyetem (6720 Szeged, Dugonics tér 13.)

Készült 200 példányban

Innovariant Kft., Szeged

ISBN szám: 978-963-306-768-0

Kiadás éve: 2020

## Tartalomjegyzék

Küldetés .....	4
Projekt adatok.....	5
Szegedi Tudományegyetem.....	6
Alprojekt-1 (SZTE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése .....	6
Alprojekt-2 (SZTE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés .....	6
Alprojekt-3 (SZTE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenység .....	7
Gastroenterológia .....	7
Kardiológia .....	17
Vaszkuláris kutatások.....	25
Vázizom kutatások .....	31
Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról .....	34
A Szegedi Tudományegyetem által beszerzett jelentősebb eszközök ....	36
Pécsi Tudományegyetem.....	39
Alprojekt-1 (PTE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése a Pécsi Tudományegyetemen.....	39
Alprojekt-2 (PTE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés .....	42
Alprojekt-3 (PTE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenység .....	44
Gastroenterológia .....	44
Kardiológia .....	47
Vaszkuláris kutatások.....	48
Vázizom kutatások .....	48

Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról .....	49
Debreceni Egyetem .....	52
Alprojekt-1 (DE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése .....	52
Alprojekt-2 (DE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés.....	54
Alprojekt-3 (DE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenységek .....	56
Gastroenterológia .....	56
Kardiológia, vaszkuláris és vázizom kutatások .....	60
Kardiológia .....	65
Vaszkuláris kutatások .....	67
Semmelweis Egyetem.....	72
Általános bevezető .....	72
Alprojekt-1 (SE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése .....	74
Alprojekt-2 (SE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés.....	75
Alprojekt-3 (SE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenységek .....	77
Gastroenterológia .....	77
Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról .....	82
A konzorcium indikátor vállalásai.....	86



## Küldetés

A pályázat fő céljai a gyomor-bélrendszer, szív, ér és vázizom eredetű betegségekben szenvedő páciensek életkörülményeinek javítása és élethosszának megnövelése voltak (Live Longer). A projekt transzlációs megközelítésben, a molekuláris biológiai kutatásoktól egészen az új technológiákon alapuló gyógyító tevékenységig igyekszik átfogni az orvostudományi kutatások közel teljes vertikumát. Erre a négy orvosképző egyetem között megvalósuló együttműködések kitűnő lehetőséget adtak csakúgy, mint az egyes intézményekben már ma is megvalósuló alapkutatási-klinikai kapcsolatrendszer. A program szoros kapcsolóeleme a transzlációs medicina. A négy szervrendszert érintő kutatások három fő irányt érintenek számos hazai és nemzetközi kutatócsoport együttműködésében: élettan, kórélettan, regeneráció és terápia. Az ígéretes projekt során vizsgált betegségek (pl. érelmeszesedés, cukorbetegség, szívelégtelenség, hasnyálmirigy-gyulladás, cisztás fibrózis) közül a legtöbb korai halálához vezet és komoly kihívást jelentenek az orvosoknak. A projekt megvalósítása során elért eredményeket 2020. október 16-án, egy Zoom-on keresztül megrendezett "Proceedings of the EFOP-3.6.2-16-2017-00006 (LIVE LONGER) project" szakmai konferencia keretein belül, a jelen kiadványban pedig egyetemenként mutatjuk be. Eredményeink rávilágítanak a vizsgált betegségek kialakulási mechanizmusainak megértéséhez, s hozzájárulhatnak a korai felismeréshez és kezeléshez. A résztvevők a kutatások eredményeképpen előreláthatólag jelentős Európai Unió által támogatott pályázatokhoz tudnak csatlakozni.



Dr. Rakonczay Zoltán  
szakmai vezető

## Projekt adatok

A pályázat címe: LIVE LONGER - Modern orvostudományi diagnosztikus eljárások és terápiák fejlesztése transzlációs megközelítésben: a laboratóriumtól a betegágyig

A (fő)kedvezményezett neve: Szegedi Tudományegyetem

Konzorciumi partnerek: Pécsi Tudományegyetem, Debreceni Egyetem, Semmelweis Egyetem

Szakmai vezető: Dr. Rakonczay Zoltán; Projektmenedzser: Zsigmond Anikó

Támogatás összege: 1.470.046.015 Ft

Megvalósítási időszak: 2017. szeptember 1. - 2020. november 29.

Konzorciumi partnerek és a támogatási összeg:

Pécsi Tudományegyetem: 411.484.000 Ft

Debreceni Egyetem: 411.472.574 Ft

Semmelweis Egyetem: 117.606.360 Ft

Szegedi Tudományegyetem: 529.483.081 Ft

Összesen: 1.470.046.015 Ft

# Szegedi Tudományegyetem

Szakmai vezető: Dr. Rakoncay Zoltán

## **Alprojekt-1 (SZTE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése**

A **Szegedi Tudományegyetemen** a pályázat kapcsán számos kutató (PhD hallgatók és posztdoktorok) bevonása történt meg a nemzetközi projektekbe. Ezen felül számos szakdolgozó tevékenyen vesz részt a labormunkában, a kísérletek tervezésétől a kivitelezésig. A témavezetők a hallgatókkal rendszeresen áttekintik az adott projekteket. A megvalósítási időszakban több szintlépés valósult meg, Dr. Maléth József, Dr. Keller-Pintér Anikó, és Dr. Kiss Lóránd tudományos főmunkatársi kinevezést kapott, Dr. Csabafi Krisztina egyetemi adjunktus lett, Dr. Pallagi Edina, Dr. Bagosi Zsolt és Dr. Berkó Szilvia habilitált, Dr. Ambrus Rita és Dr. Bagosi Zsolt egyetemi docensi kinevezést kapott. Fiatal kutatók gyakorlati kurzusokon vettek részt, ahol különböző mérési módszereket sajátítottak el a résztvevők, köztük az organoid tenyészetekkel való munkát, konfokális mikroszkópos technikát, valamint PCR végzésével kapcsolatos ismereteket. A projekt kapcsán több sikeres szakdolgozat született. Az oktatók/kutatók K+F+I management, tudás és technológia transzfer, valamint tanulási eredmény alapú készségfejlesztési képzésen vettek részt. A pályázatban tervezett eszközbeszerzések megtörténtek, a kutatók elkezdtek azokat a vizsgálatokban aktívan használni. Továbbá, egy állatház felújítása is megtörtént a pályázati forrásból. Ez az állatház már alkalmas a projekt megvalósításához szükséges speciális igényű genetikailag módosított nyulak tartására, valamint a kardiológiai kutatásokhoz használt kutyák elhelyezésére és vizsgálatára is.

## **Alprojekt-2 (SZTE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés**

A **Szegedi Tudományegyetemen** létrejött a Horizon Europe Szakcsoport. A beszámolási időszakban különböző honlapokon összegyűjtésre kerültek a legfontosabb információk az aktuális kutatás-fejlesztési és innovációs pályázatokról. Szegeden került megrendezésre a WISe3 nemzetközi tudományos fórum és ehhez kapcsolódott egy metodikai képzés is. A WISe3 konferencián elkezdődtek a tárgyalások egy H2020 pályázat lehetőségéről. A kutatócsoport vezetői tárgyalásokat folytattak kooperációs lehetőségekről külföldi egyetemekkel (Ludwig Boltzmann Institute for Experimental and Clinical Traumatology kutatóintézet; düsseldorfi Kísérletes Anaesthesiológiai Laboratórium; magdeburgi Kísérletes Radiológia intézet;

jenai Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine Head / Research Group Translational Septomics kutatóintézet). Dr. Alicia Boto Castro meghívott spanyol kutató az egyetemen előadást tartott 2019. május 30-án. Az EFOP pályázat több külföldi konferencia részvételre adott lehetőséget, ahol az egyetemen folyó munkát mutatták be a kollégák. A Szegedi Tudományegyetem szervezésében 2020. október 16-án a pályázaton belül megvalósuló kutatások eredményeit a „Proceedings of the EFOP-3.6.2-16-2017-00006 (LIVE LONGER) project” konferencián mutatták be a résztvevők. A nemzetközi konferenciák jó lehetőséget biztosítottak a külföldi szakemberekkel megbeszélésekre, melyekből várhatóan több együttműködés is fog születni az elkövetkező időszakban. Ezeken a rendezvényeken fiatal kutatók is részt vettek, hogy így erősítsük a szerepüket a nemzetközi kapcsolatok kiépítésében. A pályázat kapcsán több publikáció született, amelyek a támogatott projekteket nemzetközi szinten is láthatóvá teszik.

### **Alprojekt-3 (SZTE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenység**

#### ***Gasztroenterológia***

##### **Dr. Rakonczay Zoltán (Kórélettani Intézet): Humán pancreas modell létrehozása és karakterizálása**

Felnőtt, humán eredetű pancreas szövet vizsgálatra korlátozott számú lehetőségünk adódik, így a kutatás során általában kisállat modelleken tanulmányozzuk a pancreast. Azonban ezek a modellek nem tudják a humán szövet minden tulajdonságait lefedni. Ebből kifolyólag fontos a jelenlegi modelleken túlmutató, a faj specifikusságot áthidaló problémák megoldását lehetővé tevő humán modellek létrehozása. A kutatásunk célja volt egy pancreas duktuszok vizsgálatát lehetővé tevő modell létrehozása humán magzati szövetekből.

A vizsgálatokba 14-23. gesztációs hetű magzati pancreas szöveteket vontunk be. A szövetekből metszeteket készítettünk és azokon duktusz specifikus ioncsatornákat, a cisztás fibrózis transzmembrán regulátor (CFTR) és a solute carrier family 26 member 6 (SLC26A6) festettük meg. Ko-immunhisztokémiával a citokeratin-19 citoszkeletális fehérjét, mint pancreas duktusz markert is megfestettük. A CFTR fehérje expressziója a gesztációs idő (14. és 23. hetek között) előrehaladtával jelentősen fokozódik, azonban a citokeratin-19 fehérje arányaiban már nem fokozódik a humán magzatok növekedésével a vizsgált időintervallumban. Az SLC26A6 fehérje festődése a 20. gesztációs hét után válik kifejezetté. Mindezek alapján arra következtetünk, hogy a 14-16. hétre a pancreas duktuszok jelentős része már kialakul,

és ezután a ductuszok érése és funkciójának a specializálódása fog végbemenni. A vizsgált fehérjék ko-lokalizációját tekintve azt tapasztaltuk, hogy a CFTR és a citokeratin-19 átfedésben van egymással, már a korai gesztációs hetektől, míg az SLC26A6 fehérje csak a későbbi időszakban fejeződik ki markánsan, és ko-lokalizációt is csak akkor mutat a citokeratin-19-el.

Dr. Maléth József kutatócsoportjával együttműködésben humán magzatból származó pancreasból organoidokat is tenyésztettünk és 6 passzálságig fenn is tartottuk. Az organoid tenyészetből a 3. passzálság után kitisztultak az acinus, vér és fibroblaszt sejtek, és morfológiára ductusz szerű epitél kultúrát kaptunk. Az organoidokon levő ioncsatornák funkcionális vizsgálata intracelluláris pH méréssel történt. A mérés során ammónium pulzussal a sejtekben alkalózist indukáltunk, és az organoid sejtek erre ioncsatornáik aktiválásával adekvát választ adtak. A sejteken levő CFTR csatornákat sikerült specifikusan forskolinnal stimulálni.

Az eredmények alapján a humán pancreas szövetekből izolált ductuszok és ductális organoidok megfelelő modellek lehetnek, amik az alap kutatásban szélesebb körben is alkalmazhatók lesznek.

#### Dr. Maléth József (I. számú Belgyógyászati Klinika): Organoid kultúrák létrehozása és vizsgálata

Az exokrin hasnyálmirigy alapvető szerepet játszik a tápcsatorna fiziológiás működésének fenntartásában, azonban gyulladásos és daganatos betegségei magas mortalitással járnak, specifikus kezelésük pedig nem megoldott. Az exokrin hasnyálmirigy fiziológiás szerepének biztosításában a ductális epitél sejtek ion-, és folyadékszekréciós mechanizmusai alapvető fontosságúak, elégtelen működésük viszont gyulladásos betegségek – heveny és krónikus hasnyálmirigy gyulladás – kialakulásához vezethet. Ennek ellenére a humán szekréció mechanizmusa nem ismert, ami jelentősen limitálja a korrekciós lehetőségek tesztelését. Az eddigi ismeretek szinte kizárólag *in vitro* és *in vivo* experimentális modellekből (tenyésztett sejtek, állatkísérletes modellek) származnak, amik humán transzlálhatósága gyakran nagymértékben korlátozott. A projekt során célul tűztük ki, hogy hasnyálmirigy organoid kultúrákat hozunk létre és optimalizáljuk a tenyésztésüket és fenntartásukat funkcionális mérésekhez, ami jelentős előrelépés lehet a szekréciós folyamatok megismerésében.

A funkcionális vizsgálatok során először azt tisztáztuk, hogy az organoid kultúrák alkalmasak-e egyáltalán a hasnyálmirigy ductális ionszekréció modellezésére. Ennek eldöntésére RT-PCR technikával vizsgáltuk az ionszekrécióban részt vevő proteinek kódoló gének expresszióját az organoid kultúrákban. Az alábbi fehérjéket kódoló gének expressziója igazolódott: NHE1, NBCe1-B, CFTR, SLC26A3, SLC26A6, ANO1,

ENaC, NKCC1, illetve több  $\text{Cl}^-$  és  $\text{K}^+$  csatorna. Az intracelluláris pH változásait különböző extracelluláris oldatok és gátlószerek hatására összevetettük a primér duktális fragmentek válaszaival. Az apikális CFTR  $\text{Cl}^-$  csatornát az extracelluláris  $\text{Cl}^-$  elvonásával vizsgáltuk, ami igazolta funkcionális aktivitását. Az eredmények alapján a duktális organoid kultúrák alkalmasak az ionszekréción folyamatok vizsgálatára.

A munka további részében a humán organoidok létrehozását tűztük ki célul, aminek első lépéseként a szükséges etikai engedélyeket beszereztük a Regionális Humán Orvosbiológiai Tudományos és Kutatásetikai Bizottságtól. Jelenleg 3 típusú mintából rutinszerűen tudunk organoidokat létrehozni: kadaver donorok hasnyálmirigyből, sebési rezekátumokból, illetve ERCP során vett kefecitológiás mintákból. A létrehozott organoid kultúrában igazoltuk a duktális epitél sejtekre specifikus transzkripció faktorok (Foxa2, Hnf1B és Sox9) jelenlétét a nukleuszban. Ezt követően mind mRNS, mind fehérje szinten sikerült kimutatnunk az NBC1, az NHE1 és a CFTR experszióját és azok működését funkcionális mérésekkel igazoltuk.

Az egér organoid kultúrák ionszekréción folyamatai jelentős átfedést mutatnak a primér izolált egér duktális fragmentekben mérhető szekréción folyamatokkal. Ez arra utal, hogy az organoid kultúrákban a tenyésztés során nem változik jelentősen a különböző transzporter és csatornafehérjék kifejeződése. Ennek alapján a hasnyálmirigy organoidok alkalmasak a fizioiogiás folyamatok vizsgálatára, így felhasználhatóak a humán duktális szekréción pontos megismerésére.

#### Dr. Venglovecz Viktória (Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézet)

Az utóbbi 3 évben két különböző projekten dolgoztunk. Az egyik projekt kapcsán együttműködve a Maribor-i egyetem Élettani intézetének két kutatójával (Dr. Andraz Stozér és Dr. Jurij Dolensek) sikerült beállítanunk a szövet szelet technikát a pancreas duktális sejtek vizsgálatára, mely lehetővé teszi ezen sejtek strukturális és funkcionális vizsgálatát, illetve nagy előnye, hogy a technika segítségével a környező sejtek (sziget sejtek, acinusok) és a duktális sejtek közötti kölcsönhatások vizsgálatára is lehetőségünk nyílik. Az együttműködés eredményeként egy közös közleményünk született (Gál *et al.*, Front Physiol, 2019), illetve az idei évben elnyertük a maribor-i munkacsoporttal közösen beadott, NKFIH által meghirdetett SNN pályázatot (SNN 134497 "Az exokrin-endokrin pancreas interakción jelentősége normál és patológiás körülmények között"), amely biztosítja a további együttműködést.

A második projekt kapcsán a dohányzás hatását vizsgáltuk a nyelőcső epitél sejtek iontranszport folyamataira, illetve a nyelőcső hámból funkcionálisan aktív, nyelőcső organoidokat tenyésztettünk. A vizsgálataink során igazoltuk, hogy a dohányzás eltérőképpen befolyásolja a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  kicserélő (NHE) működését a nyelőcső rák kialakulásának kezdeti szakaszában (Barrett nyelőcső), illetve az

előrehaladottabb stádiumokban (diszplázia, adenokarcinóma). Azt találtuk, hogy normál nyelőcsőben, illetve Barrett nyelőcsőben az iontranszport aktivitás fokozódik, és a sejtek osztódása csökken a dohányzás hatására, amely feltehetőleg egy védő mechanizmus a sejtek részéről. Ezzel szemben a nyelőcső diszplázia és adenokarcinóma esetén csökken a dohányzás hatására az NHE aktivitás, és fokozódik a sejtek osztódása, ami alapján feltételezzük, hogy a dohányzás rontja a betegség kimenetelét nyelőcső diszplázia ill. nyelőcső adenokarcinóma esetén. Egér nyelőcső hámból növesztett organoid sejt kultúrákon sikerült igazolnunk a főbb iontranszporterek jelenlétét mind funkcionálisan mind pedig fehérje szinten, ezáltal sikerült beállítanunk egy olyan új kísérleti modell-t, ami alkalmas a nyelőcső epitél sejtek ion transzport folyamatainak élettani és kórélettani vizsgálatára. Ehhez a projekthez kapcsolódóan egy közleményünk született (Becskeházi *et al.*, Front Physiol, 2020).

Dr. Csabafi Krisztina (Kórélettani Intézet)

A kisspeptinek leginkább a reprodukív (HPG) tengely szabályozóiként ismertek, de ezen kívül számos daganattípus esetén leírták metasztázisképződést gátló hatásukat, a glukagonhatás közvetítőiként gátolják a pancreas inzulinszekrécióját, szerepük van a táplálékfelvétel szabályozásában. Továbbá, intracerebroventrikuláris kisspeptin adása fokozza a gasztrointesztinális motilitást. A kisspeptin-54-ből képződő, biológiailag aktív, endogén kisspeptinek (Kp-14, Kp-13, Kp-10) közül a 10 aminosav hosszúságú Kp-10 a legrövidebb, de számos kutatás irányul ennél rövidebb, előnyösebb farmokinetikai és farmakodinámiás tulajdonságokkal rendelkező Kiss1 receptor agonisták és antagonisták felfedezésére. Az EFOP pályázat keretei közt végzett kísérleteinkben a 8 aminosavas Kp-8 (a Kp-10 N-terminálisan 2 aminosavval megrövidített fragmentuma) neuropszichiátriai vonatkozású hatásait vizsgáltuk. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, a Kp-8 képes-e aktiválni a Kiss1 receptorokat, illetve rendelkezik-e a Kp-13 viselkedésre gyakorolt hatásaival. A kísérleteinkhez felnőtt, hím Wistar patkányokat használtunk. A Kp-8 fragmentum úgy tűnik, megőrizte a Kiss1R-agonista hatást, aktiválta a HPG és HPA tengelyeket, illetve szorongásszerű viselkedést váltott ki patkányokban. A Kp-13-mal ellentétben azonban gátolta a spontán és explorátoros lokomóciót, amiben szerepet játszhat a dopaminerg pályák modulálása. Reményeink szerint a génexpressziós vizsgálatok eredményei további értékes információval szolgálnak majd a mechanizmus tisztázásához. Elképzelhető, hogy a NPFF receptorokhoz való affinitás változása áll az eltérések hátterében, ehhez azonban további kísérletek szükségesek.

A demencia tüneteit okozó betegségek közül az egyik leggyakoribb az Alzheimer-kór (AD). Ma már számos kutatás igazolta, hogy az alapvetően neurodegeneratív

betegségnek tekintett AD egész szervezetünket érintő szisztémás hatásokkal bír. Kísérleteinkben vizsgáltuk, hogy a Kp-13 hogyan befolyásolja a Wistar patkányok térbeli tanulását és memóriáját amyloid- $\beta$ 42 (A $\beta$ 42) által kiváltott neurotoxicitásban. Eredményeink alapján a Kp-13-nak jótékony hatása lehet a tanulásra és memóriára, továbbá védő hatása lehet AD-ben. Ez részben a hippocampális funkciók serkentésén, részben az A $\beta$  toxicitás csökkentésén keresztül történhet.

*Dr. Bagosi Zsolt (Kórélettani Intézet): Az urokortin receptorok szerepe a nikotin és alkohol okozta elváltozásokra*

Kísérleteink célja még az urokortinok hatását vizsgálni toxikus májkárosodásban. Az alkoholos májkárosodás modellezésére a binge-drinking klasszikus kísérleti módszerét a drinking in the dark-ot alkalmaztuk különböző dózisú alkohol kezelés mellett C57BL6 egereken. Vizsgáltuk az állatok viselkedésében bekövetkező változásokat (szorongás, depresszió), meghatároztuk a véralkohol-szintet, valamint a májkárosodás következtében kialakult laboratóriumi biomarkereket. A nikotin krónikus adása és akut megvonása különböző hatásokkal vannak a horizontális és vertikális lokomócióra és ennek megfelelően a ventrális és dorsalis striátumból felszabaduló dopaminra patkányokban. Ezeket a hatásokat a CRF1, és nem a CRF2 receptor közvetíti. Az alkohollal kapcsolatos kísérleteink azt bizonyították, hogy az alkohol rohamszerű ivása szorongásoldó és anti-depresszáns hatásokkal, míg az akut megvonása szorongás- és depresszió-szerű tünetekkel jár egerekben, miközben a szociabilitást és a szociális újdonság iránti preferenciát egyik sem befolyásolja jelentősen. A rohamszerű alkohol ivás kedélyre kifejtett pozitív hatásaiért a CRF2, a negatív hatásaiért pedig a CRF1 receptor felelős.

*Dr. Szakács Júlia (Kórélettani Intézet): Az obestatin hatásának feltérképezése*

Az obestatin egy 23 aminosavból álló, preproghrelinből származó peptid, amely számos szervben megtalálható. Vizsgálataink hipotézise azon alapult, hogy a ghrelinhez hasonlóan, az obestatin is a tápcsatorna-agy tengely peptidje, ezért szerepe lehet nemcsak a táplálékfelvételben és az energiaháztartásban, hanem a szorongásban, depresszióban is. Korábbi állatkísérleteinkben elsőként igazoltuk az akut, centralis obestatin anxiogén és depresszió-szerű hatását és feltételezett mechanizmusát, a ghrelin receptor jelátviteli útvonal és a HPA tengely aktiválása útján.

A szorongás és a depresszió terápiája világszerte megoldatlan probléma. Új, ígéretes antidepresszáns szerek tűnik az eredetileg fájdalomcsillapító és érzéstelenítőszerként ismert ketamin, aminek a ghrelinnel való kölcsönhatását már vizsgálták. Kísérleteinkben szerettük volna feltérképezni az akutan adagolt obestatin



és ketamin együttes hatását depresszió állatkísérletes modelljében. Eredményeink szerint az obestatin fokozta az immobilizációt erőltetett úszás tesztben, míg a ketamin csökkentette, sőt az obestatin depresszió-szerű hatását is képes volt felfüggeszteni.

Dr. Ambrus Rita, Dr. Szabóné Révész Piroska, Dr. Csóka Ildikó, Dr. Csányi Erzsébet  
(Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet)

A cisztás fibrózis (CF) terápia-fejlesztésének betegszempontú elemzése a betegek életminőségének javítása érdekében elengedhetetlen, mert a hosszan tartó, összetett és komplex terápia követése jelentős teher a betegnek. Ma már közzismert, hogy a CF egy olyan betegség, amelyet a CF transzmembrán konduktancia regulátor (CFTR) anioncsatornáját kódoló gén mutációi okoznak. A CFTR diszfunkció és az ennek következtében kialakuló nyálkaelzáródás és a fertőzés kombinációja túlzott és diszfunkcionális gyulladásos választ eredményez, ami hozzájárul a légutak irreverzibilis károsodásához és fibrózisához. A humán köpet reológiai viselkedése egyértelmű jelzője lehet a CF betegek állapotának, illetve az esetleges kezelések hatékonyságának. Egyre több a törekvés arra, hogy a köpet reológiai tulajdonságait rutinszerűen vizsgálják a klinikai diagnosztikában, ehhez viszont elengedhetetlen olyan protokollok kidolgozása, amelyek figyelembe veszik a mérési eredményt befolyásoló paramétereket és a tényleges struktúráról adnak információt.

Kutatási célként definiáltuk a betegelvárások, az adherencia-faktorok, valamint az engedélyező hatóság irányelveinek áttekintését és kockázat alapú értékelését, egy betegközpontú terápia-fejlesztési terv és elemzési módszertan létrehozása érdekében. Az elemzéseket Quality by Design (QbD) szemlélet kiterjesztett módszertana szerint végeztük. Továbbá, vizsgálataink során célul tűztük ki hipertóniás sóoldatok *in vitro* köpet reológiai viselkedésére gyakorolt hatásának elemzését. A vizsgálatokhoz 300 mmol/l nátrium-bikarbonát, nátrium-klorid és mannit oldatokat, illetve a hígító hatás tanulmányozásához ugyanolyan térfogatú tisztított vizet alkalmaztunk.

Ezen felül terveztük különböző fizikai-kémiai sajátságú gyulladáscsökkentő és antibiotikus hatóanyagokat (meloxicam és ciprofloxacin) tartalmazó szárazporinhalációs rendszerek előállítását és fizikai-kémiai, valamint *in vitro* vizsgálatainak végzését.

Összegyűjtésre kerültek a beteg-adherenciát befolyásoló faktorok, valamint a terápia gazdasági szempontjai és a hatásági elvárások. A hatásági nemzetközi irányelvek áttekintése mellett a gazdasági faktorokat is elemeztük (a fejlesztések, a klinikai vizsgálatok, a terápia költségei). A fentiek közül kiválasztásra kerültek a terápia-fejlesztés kritikus faktorai, a szoftveres kockázat-elemzés eredményei alapján pedig a CF terápia javasolt intervenciós pontjai a következők: a támogatás fokozása

(pl. családi), a beteg-edukáció növelése és a terápia monitorozásának fokozása. Az adherencia mértékét főként a CF progressziójának foka és a terápia komplexitása befolyásolja.

Kísérleteink során reométert alkalmaztunk. CF betegek köpet mintáit elemeztük, valamint mesterséges köpetet állítottunk elő a betegség *in vitro* modellezésére. Felvettük a vizsgálati minták lineáris viszkoelasztikus tartományát, majd frekvenciafüggő oszcillációs tesztet végeztünk a gélállapot, illetve a gélerősség vizsgálatára. A humán köpet mintákat reológiai jellegük alapján három csoportba osztottuk, egy jelentősen elasztikus, egy elasztikus gél és egy viszkoelasztikus folyadék kategóriát állapítottunk meg. A mesterséges köpet összetételek egyike sem mutatott reológiai hasonlóságot a humán mintákkal. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a fagyasztott köpet minták előkezelése kritikus lehet, így a mérés előtti tárolási hőmérséklet nem, míg a mechanikai hatások jelentősen hatnak a köpet reológiai jellegére, amelyet a rutin mérési protokoll során javasolt figyelembe venni a legnagyobb hatása a térfogati hígításnak van, a különböző sók hatása között nem találtunk különbséget.

Kutatási munkánk másik része a bikarbonáthoz ( $\text{HCO}_3^-$ ) kapcsolódik. A Salvus vizet még ma is gyakran javasolják az orvosok inhalálásra nagy só és hidrogénkarbonát koncentrációja miatt. Elfolyósítja a letapadt nyálkát és segíti a köpet ürítését. Eredeti terv szerint haladunk a kutatómunkával. Protokollt dolgoztunk ki a humán CF-es köpet reológiai vizsgálatára és a nátrium hidrogénkarbonát, a nátrium klorid és a mannit befolyását vizsgáltuk a humán köpet reológiai viselkedésére. DPI formulációk előállítására és tesztelésére során meghatároztuk a szükséges technológiai paramétereket és összetételeket, ezáltal magas tüdődexpozíciót mutató készítmények előállítását igazoltuk. Az irodalmi adatok és saját eredményeink alapján mindenképpen kombinációs készítmény fejlesztése javasolt, az alábbiak szerint:

1) A bikarbonát, a só és a mannit tartalmú kombinációs készítmény növelné az ASL mennyiségét és segítené a mukociliáris funkciót, a köpet eltávolítását.

2) Gyulladásos folyamat esetén NSAID tartalmú készítmény javasolható. Preferált hatóanyag az ibuprofen.

3) Antibiotikum alkalmazása bakteriális fertőzés esetén indokolt.

Az itt megjelölt kompozíciók egymás hatását is erősíthetik, például az 1-es összetétel segítheti a 2. vagy a 3. forma alkalmazásának eredményességét.

A készítmények besorolása, az alkalmazott segédanyagok, gyógyszerforma (inhalációs készítmények) és applikálási követelmények vonatkozásában az EMA és az FDA útmutatói az irányadóak. Az EMA dokumentuma felvázolja a hatóanyagnak a tüdőbe vagy az orr nyálkahártyájára történő bejuttatására szánt emberi gyógyszerek várható minőségi aspektusait, helyi vagy szisztémás hatás kiváltása céljából. Ezek

magukban foglalják a nyomás alatt álló adagos inhalálókat, a száraz por inhalátorokat, a porlasztáshoz szükséges termékeket és a nem nyomás alatt álló, adagolt inhalálókat, valamint a nyomás alatt álló, adagolt orr spray-eket, orr porokat és orr folyadékokat.

*Dr. Poles Marietta, Dr. Varga Gabriella (Sebészeti Műtéttani Intézet): Nitroztatív stressz csökkentés és neuroprotekciónak metán belélegeztetéssel patkány ischaemia/reperfúzió modellen*

Célunk a nitroztatív stressz főbb komponenseinek és a myentericus nitrerg neuronok bélszakasz-specifikus változásainak vizsgálata volt az tranzienis ischaemia-reperfúzió (I/R) kiváltása során. Arra a kérdésre is kerestük a választ, hogy a belélegezett metán (CH<sub>4</sub>) milyen hatásmechanizmus révén képes befolyásolni az így kialakult nitroztatív stressz szintjét. Az oxidatív és nitroztatív stressz bélszakaszonként jellemző, eltérő szintje az I/R okozta gyulladás szegment-specifikusságához vezet. A CH<sub>4</sub> belélegzés az ischaemia alatt aktiválódó nitroztatív és a I/R során kialakuló oxidatív stressz szintjének jelentős csökkentésével hozzájárul a nitrerg myentericus neuronok megváltozott környezetükhöz való adaptív alkalmazkodásához. Ez a megfigyelés alátámasztja a CH<sub>4</sub> belélegzés terápiás célú alkalmazhatóságát.

*Dr. Varga Gabriella, Dr. Érces Dániel (Sebészeti Műtéttani Intézet): A tüdő- és vékonybél keringési zavarának elkülönítése a kilélegezett metánszint mérésével*

Az intenzív osztályokon kezelt betegeknek gyakran jelentkezik a tüdő és a gastrointestinalis rendszer keringésének egyidejű károsodása. Korábbi vizsgálataink igazolták, hogy az ileum mikrokeringése szoros korrelációt mutat a kilélegezett metán szinttel ép tüdőkeringés esetében, de a kilélegezett metán koncentrációját a légzőfelület és a tüdőkeringés változásai is jelentősen befolyásolhatják. Kísérletünk célja olyan módszer kialakítása volt, amely alkalmas az említett szervek keringési zavarainak elkülönítésére mind ismert, mind ismeretlen kezdeti kilélegezett metán szint esetében. Eredményeink alapján meg tudtuk állapítani, hogy új módszerünk használható a tüdő és a gasztrointesztinális keringési zavarok elkülönítésére és időbeli felismerésére még alacsony vagy nem ismert kiindulási kilélegezett metánszintek esetében is.

*Dr. Hartmann Petra (Sebészeti Műtéttani Intézet): Antibiotikumok in vitro és in vivo hatása a mitokondriális légzési láncra*

Több adat utal arra, hogy egyes antibiotikumok mellékhatásainak oka a mitokondriális diszfunkció lehet. Kísérleteink célja a gyomor-béltraktus sebészi profilaxisában alkalmazott Ceftriaxon és Rifaximin kombináció mitokondriális funkcióra gyakorolt hatásának tisztázása volt. E szerek alkalmazásának

következményeit ilyen irányban még nem vizsgálták. Kísérleteinkben a Rifaximin és Ceftriaxon koncentráció-függő módon gátolja a mitokondriális oxidatív foszforilációt és az elektrontranszportot, amit elektronvesztés, ezáltal fokozott reaktív oxigén gyök termelődés kísér. A jelenség *in vivo* körülmények között is kórtani jelentőségű lehet.

*Dr. Hartmann Petra (Sebészeti Műtéttani Intézet): Az  $\alpha 7$  nikotinerg acetilkolin receptor szerepe máj iszkémia-reperfúzió során kialakuló mitokondriális diszfunkcióban*

Az acetilkolin (ACH) a nikotinerg  $\alpha 7$  alegység ( $\alpha 7$ -nAChR) közvetítésével képes a gyulladásos reakciók szabályozására. Továbbá kimutatták, hogy az  $\alpha 7$ -nAChR nem csak a sejtfelszínen, hanem a sejtalkotókon is megtalálható, például a mitokondrium membránján. Így célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a receptor lehetséges ligandjának, a kolin donor L- $\alpha$ -glicerilfoszforilkolinnak a (GPC) szerepét az iszkémia-reperfúzió (IR) alatt kialakuló mitokondriális működés károsodásában.

A mitokondriális működés szabályozásában az  $\alpha 7$ -nAChR ligand-függő módon vehet részt, ezáltal csökkentve az IR-ban kialakuló sejtkárosodás mértékét. A GPC hasonló hatékonyságúnak bizonyult a receptor szelektív agonistáival, ami alapján feltételezhető, hogy a GPC kolin tartalmán keresztül hat a mitokondriális  $\alpha 7$ -nAChR-ra. Eredményeink alapján a gyulladás során megváltozott mitokondriális funkció módosítására nyílik lehetőség a  $\alpha 7$ -nAChR befolyásolásán keresztül.

*Dr. Juhász László (Sebészeti Műtéttani Intézet): Mitokondriális funkció vizsgálata vékony- és vastagbél „punch” biopsziákból*

A gyulladásos és immunológiai kórképek mindegyikében szerepet játszik a mitokondriumok diszfunkciója. A gasztrointesztinális rendszer szubcelluláris energiatermelő folyamatainak tanulmányozása a mechano-kémiai módszerekkel történő feltárással nagyon érzékeny sejtszervek esetében igen nehéz feladat. Célunk olyan eljárás kidolgozása volt, mely alternatívát jelenthet a hagyományos, izolált mitokondriumokon végzett mérésekkel szemben. Adataink szerint a punch biopsziás mintavétel species-függő módon és meghatározott bélszakaszok esetében alternatívát jelenthet a mitokondriális funkció vizsgálatára, így eljárásunk új lehetőséget biztosíthat a gasztrointesztinális kórfolyamatok további mechanizmusainak megismerésére.

*Dr. Varga Gabriella (Sebészeti Műtéttani Intézet): Az enterális idegrendszer sérülésének vizsgálata hólyag augmentáció során*

A hólyag augmentáció műtéti eljárása során megoldatlan technikai akadályt képez a mucosától megfosztott lebeny kontrakciója. Hipotézisünk szerint a hólyag műtéti augmentációja során végzett mucosectomia után kialakuló lebeny-zsugorodás oka az enterális idegrendszer (ENS) sérülése lehet. Ezt alátámasztja, hogy a fiziológiás

bélműködéshez alapvetően szükséges az ép ENS, ami több kórképben károsodik, pl. aganglionosisban a plexus myentericus, vagy a plexus submucosus nitrogén monoxid szintáz pozitív (NOS+) inhibitoros motoneuronjai. Az intestinalis neuronális dysplasia és hypoganglionosis (simaizom relaxáció malfunkció) az érintett bélszakasz obstrukcióját eredményezheti.

Mucosectomiát követően szignifikáns lebenykontrakció jelentkezett a gyomor, az ileum és a colon szerveknél. A jelenséget magyarázhatja a NOS+ inhibitor motoneuronok funkciójának megszűnése, amit a submucosalis ganglionok eltávolítása okoz. Következésünk szerint a fentiekben ismertetett sebészi technika módosításra szorul.

*Dr. Juhász László (Sebészeti Műtéttani Intézet): Az extramitokondriális kalciummozgás vizsgálata*

Hipoxiás kórképekben a mitokondriális permeabilitási tranzíciós pórus (mPTP) nyitása kalcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) kiáramláshoz és a membránpotenciál összeomlásához vezet. A folyamat fontossága ellenére nincs laboratóriumi vizsgálati módszer a  $\text{Ca}^{2+}$  és az oxigén ( $\text{O}_2$ ) mozgások egyidejű, dinamikus meghatározására. Célunk (1) az extramitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{O}_2$  fluxusok szimultán mérése, valamint (2) az mPTP gátlás és az anoxia mitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázisra gyakorolt hatásainak vizsgálata volt. Új vizsgálati módszerünk alkalmas a  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{O}_2$  fluxusok és az mPTP nyitás egyidejű detektálására különböző biológiai mintákban. A stimulált  $\text{Ca}^{2+}$  felvétel és leadás ideje az mPTP által közvetített  $\text{Ca}^{2+}$  efflux új paramétere, ami alkalmas lehet az mPTP gátlás hatékonyságának megállapítására is.

*Dr. Poles Marietta (Sebészeti Műtéttani Intézet): Metán inhaláció hatása a hipoxaemiás hipoxiában fellépő oxidatív és nitroztatív stressz válaszreakcióra patkányokban*

Az akut vagy krónikus légzőszervi betegségek következtében kialakuló hipoxaemiás hipoxia által okozott szövetkárosodás a klinikai gyakorlat súlyos problémája. Kutatócsoportunk korábban már kimutatta, hogy a normoxiás metán gázkeverék inhalációja csökkenti a vékonybél ischaemia/reperfúzió által indukált oxidatív és nitroztatív stressz mértékét. Munkánk célja ezért annak vizsgálata volt, hogy a metán inhaláció szisztémás oxigénhiány esetében is képes-e kifejteni protektív hatásait a szöveti oxidatív és nitroztatív stresszre. A hipoxia során alkalmazott metán inhaláció a leukocita aktiváció és a nitroztatív stressz szintjének csökkentésével, és a mikrocirkulációt támogató NOx-NO konverzió keresztül járul hozzá a szövetek hipoxiás károsodásának kivédéséhez.

Dr. Juhász László, Dr. Poles Marietta, Rutai Attila, Dr. Szabó Andrea (Sebészeti Műtéttani Intézet): A kinurénsav és szintetikus analógjának mikrokeringési és mitokondriális hatásai polimikrobiális szepszis modellben patkányon

Munkacsoportunk több éve foglalkozik egy standardizálható, polimikrobiális szepszis modell létrehozásával a Minimum Quality Threshold in Pre-clinical Sepsis Studies (MQTiPSS, Osuchowski, 2018) ajánlás figyelembe vételével. A MOF nyomon követésére a humán pontrendszerhez hasonló Rat Organ Failure Assessment (ROFA) score-t hoztunk létre. Modellünket a mikrokeringési és mitokondriális reszuszcitációt eredményező terápiák kifejlesztésére kívántuk felhasználni. Szepszisben megfigyelhető az N-metil-D-aszpartát-receptorok (NMDA-R) fokozott aktivációja, ami komplex intracelluláris károsodáshoz, oxidatív-nitrozatív stresszhez (ONS) és a mikrokeringés felborulásához vezet. Az NMDA-R farmakológiai gátlásának hatásait vizsgáltuk meg szepszis modellünkben, amelyhez endogén NMDA antagonistát (kinurénsav – KYNA) és szintetikus (SZR-72) analógját alkalmaztunk. Következtetés: Az SZR-72 kezelés közvetlenül serkenti a mitokondriális funkciókat, ami fokozódó ATP termeléshez vezet, míg a KYNA elsődlegesen a mikrokeringési diszfunkciót mérsékli. Az SZR-72 nagyobb mértékben javította a mitokondriális funkciókat, aminek hátterében a csökkent ONS és az intracelluláris  $Ca^{2+}$  mozgások szabályozása állhatnak.

## **Kardiológia**

Dr. Baczkó István, Dr. Jost Norbert, Dr. Koncz István, Dr. Nagy Norbert, és Dr. Varró András (Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet)

A kardiovaszkuláris betegségek világszerte, így az Európai Unióban és Magyarországon is előkelő helyet foglalnak el a megbetegedési és halálozási statisztikákban. A következő betegségek, illetve speciális állapotok fokozzák az aritmia hajlamot: különböző fokú szívelégtelenségek, számos széles populációkat érintő egyéb rizikófaktor és krónikus társbetegség is elősegíti, mint pl. diabétesz, magas vérnyomás, krónikus vesebetegség, elhízás, öregedés, intenzív sport, stb. Egy másik komoly probléma az, hogy kardiális (és sajnos nem kardiális) szereink jelentős része életet veszélyeztető önálló entitású új aritmiák forrása lehet, amely tulajdonképpen egy mellékhatás, és amelyet proaritmianak nevezünk. A proaritmias állapotok előrejelzése és megfelelő klinikai markerek keresése fontos kihívást jelent.

A kutatás célkitűzései:

1. Hogy megértsük a sportolókban bekövetkezett szívremodelling hatásait megvizsgáltuk a hosszú ideig tartó erőteljes fizikai tréning hatásait a szív morfológiára

és elektrofiziológiára kutya, illetve a Ca-homeosztázisra és a kamrai repolarizációra patkány sportszívmodellben.

2. Új kísérletes antiaritmias szerek proaritmias mellékhatásainak megbízhatóbb szűrése transzgenikus hosszú QT (LQT) nyúlmodellen

3. Megvizsgálni és összehasonlítani az amiodaron (Amio) és aktív metabolitjának a dezetilamiodaronnak (DEA) celluláris elektrofiziológiai hatásait krónikus kutya modellen

A vizsgálatokat kutya, nyúl, tengerimalac és patkányon, illetve az állatokból származó szívpreparátumokon végeztük. Vizsgálatainkat *in vitro* (a standard mikroelektród és patch-clamp technikák, illetve Langendorff perfundált rendszer segítségével), *in vivo* (EKG és haemodinamikai vizsgálatok) és *ex vivo* (monofázisos akciós potenciálmérés, MAP) elektrofiziológiai módszerekkel vizsgáltuk. A sportolói szívmodell kísérletekben nem invazív morfológiai vizsgálatokkal (ultrahang) ellenőriztük a szívhipetrófiát. A fehérje és mRNS szinteket molekuláris kardiológiai módszerekkel vizsgáltuk. Krónikus toxikológiai és szöveti szintvizsgálatokkal ellenőriztük a DEA és Amio szinteket kutya preparátumokon.

1a. A testfelületre indexált bal kamrai átmérő (EDD/BSA), testsúlyra indexált szeptum szélesség (IVS/BW) és balkamrai tömeg (LVMI) szignifikánsan magasabb volt az sportedzett (Ex) kutya csoportban, mint a nem sportolt (Sed) csoportban. Az átlag RR intervallumok illetve annak variabilitása szignifikánsan magasabb volt az Ex csoportban. A repolarizáció paraméterek is szignifikánsan megnyúltak az Ex csoportban. A dofetilid okozta QTc megnyúlás nem volt eltérő az edzés előtt és után. Az Ex csoporthoz tartozó kutyákban magasabb volt a *burst* stimuláció által indukált életveszélyes aritmia hajlam, mint a kontroll csoportban. Az Ex csoportban jelentősebb magasabb volt a fibrózis mértéke mint a Sed csoportban.

1b. Az edzett csoportban levő állatoknak (úszó patkányok) szignifikánsan alacsonyabb volt a szívfrekvenciájuk, ugyanakkor jelentősebb erősebb volt az extraszisztolés és a spontán  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás események incidenciája is. Az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalma és a  $\text{Ca}^{2+}$ -tranziensek amplitúdója is jelentősen magasabb volt az edzett csoportban.

2. Az LQT2, LQT5 illetve LQT2-5 transzgenikus nyulak sokkal érzékenyebbek voltak az  $\text{I}_{\text{Kr}}$  illetve  $\text{I}_{\text{K1}}/\text{I}_{\text{Ks}}$  gátlószerek hatásaira, mint a kontroll csoport (WT, vad típus) nyulai. Az  $\text{I}_{\text{Ks}}$  csatorna módosító hatás miatt a LQT5, illetve LQT2-5 nyulakban erőteljesebb volt a QT csökkentő képesség vesztese magasabb frekvenciákon. Fontos kiemelni, hogy a LQTS modellekben jelentősen magasabb volt a  $\text{K}^{+}$ -csatorna gátlószerek okozta *ex vivo* (MAP) aritmiatípusok incidenciája, illetve azoknak súlyossága és időtartama, mint a WT állatokban.

3). Mind a DEA és mind pedig az Amio markáns antiaritmiás hatással rendelkezett kutyában és nyúlban is. Mindkét vegyület a krónikus kezelés hatása eredményeképpen megnyújtotta a PP, PQ, QTc intervallumokat, a pitvari és kamrai akciós potenciál időtartamot (APD) kutyákban. Mind a DEA és Amio krónikus kezelés lecsökkentette a depolarizáció maximális sebességét ( $V_{\max}$ ) értéket, illetve a késői  $I_{NaL}$ ,  $I_{K1}$ ,  $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$  áramokat. Ezen eredményeket úgy érte el a két vegyület, hogy a DEA kezelt csoportban jelentősen alacsonyabb volt a DEA gyógyszer-szint akkumuláció, mint az Amio kezelt kutyákban. Kamrai preparátumokban az mRNS szintek nem, vagy csak csekély mértékben tértek el a krónikus DEA vagy Amio kezelés hatására. A farmakokinetikai vizsgálatok jelentősen jobb biohasznosulást igazoltak vissza a DEA kezelt kutyákban, mint Amio esetében. A krónikus toxikológiai vizsgálatok igazolták, hogy a DEA lényegesen alacsonyabb mértékben okozott tüdőfibrózist, mint az Amio. Az Amio kezelés markáns neutropéniát okozott, amit a DEA kezelés jelenlétében viszont nem tapasztaltunk.

#### Következtetések

1a) A sportszívben a morfológiai és vegetatív változások jelen vannak. Bizonyos körülmények között a repolarizációs változások, és fokozott fibrózis eredményeképpen a sportszív érzékenyebb lehet az életet veszélyeztető aritmiákra. Utóbbit megerősítik a *burst pacelt* kísérleti adataink is (Polyák *et al.*, közlésre előkészítve, 2020).

1b) Az intenzív fizikai tréning: *i)* emelkedett SR  $Ca^{2+}$  tartalommal társult, ami egy adaptív folyamat eredménye; *ii)* érzékenyíti a szívet és megemeli a spontán  $Ca^{2+}$ -felszabadulás és extraszisztólés tevékenység incidenciáját. Mindez azt jelenti, hogy a fokozott edzéshez társult remodelling megemelheti az életet veszélyeztető aritmiák okozta hirtelen szívhalálok gyakoriságát (Gazdag *et al.*, Sci Reports, 2020).

2). A LQT2, LQT5, illetve LQT2-5 transzgenikus nyulakban igazoltuk a specifikus ioncsatornagátló szerek ( $I_{Kr}$  gátlószer LQT5-ben, illetve  $I_{K1}$  és  $I_{Ks}$  gátlás LQT2, illetve LQT2-5 nyulakban) fokozott hatását. Így ezek a nyulak megbízhatóbb modellként szolgálhatnak kevert *multichannel* gátló szerek proaritmiás mellékhatásainak a vizsgálatára (Hornyik *et al.*, Br J Pharmacol, 2020).

3). A krónikus DEA hasonló elektrofiziológiai hatásokkal rendelkezik, mint az anyavegyület Amio. A DEA-nak ugyanakkor jobb a farmakokinetikai tulajdonságai és alacsonyabb a szervezetben a gyógyszerfelhalmozódási szintje, ami alacsonyabb toxicitást jelent. Mindez azt jelenti, hogy érdemes megfontolni az Amio kezelés leváltását az aktív metabolit DEA-ra, ami így egy új és sokkal kedvezőbb kezelési választás lehetne a szívritmuszavarok ellen (Kohajda *et al.*, eLife, revízió alatt, 2020).

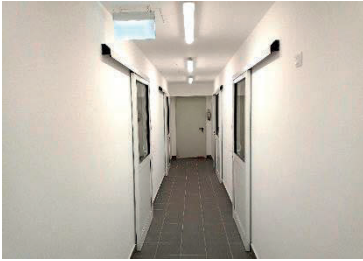


### *Kardiológiai kutatásokhoz kapcsolódó speciális igényű állatok tartására alkalmas állatház kialakítása*

Intézetünk 2017-ben nyerte el a támogatást új, modern és nagy kapacitású állatházi szárny kialakítására. 2017-től 2019 tavaszáig bezáróan árajánlat egyeztetések, valamint a beruházás megtendereztetése zajlott, majd 2019. május 1-jével a GENÉV Kft. által megkezdődtek a kivitelezés lépései. 2019. február 1-től Dr. Bencsik Péter vette át az állatház vezetésének, ezzel együtt a felújítási munkálatok felügyeletének feladatait. A kivitelezési munkálatok során kialakításra került 5 db állattartó szoba, 1 db mosogatóhelyiség, valamint 1 db állatgondozói szoba. Az állattartó szobák közül 2-ben (egy patkányok tartására, valamint egy egerek tartására alkalmas) egyedileg szellőztetett ketrecrendszerek (IVC) kerültek telepítésre. Két szoba alkalmas patkányok, míg másik 2 szoba egerek tartására, beleértve a génmódosított állattörzseket is. Az 5. állattartó szobában tengerimalacok kerültek elhelyezésre.

Minden helyiség egyedileg klimatizált és egy külön az új épületszárny ellátására tervezett és beépített szellőztető rendszer által külön szellőztetett. A gépészet részeként beszerzésre és beüzemelésre került egy nagy teljesítményű ipari, állatházi mosogatóberendezés. A műszaki átadás 2019. novemberében történt meg, és a használatbavételi engedélyt 2020. január 31-én kaptuk meg. A projekt keretében további nyúl, valamint tengerimalac tartására alkalmas, Európai Unió szabványának megfelelő méretű és minőségű ketrecek kerültek beszerzésre.

A facilitás kialakítása által új, addig az intézet területén nem tartott fajok, illetve számos transzgenikus állattörzs (nyúl, egér) a legmodernebb körülmények között történő tartására nyílt lehetőség. Az Intézetben működő kutatócsoportok aktívan használatba vették az új facilitást: jelenleg 5 faj, egér, patkány, nyúl, tengerimalac és kutya találhatóak meg elszeparált körülmények között az állatházban. További fajok tartására is lehetőség nyílt (pl. kecske, juh), melyek kísérletbe történő bevezetésére azonban még nem került sor.



Képek a felújított és berendezett állatházrészről: bal felső: folyosói nézet a két oldal felé nyílóállatházi szobákkal; jobb felső: egér IVC működés közben, hátul a jó látható szellőző nyílással; bal alsó: patkány IVC és metabolikus ketrec állvánnyal; jobb alsó: nagy teljesítményű ketrec mosogatógép működés közben.

### Dr. Csont Tamás (Biokémiai Intézet)

#### *Iszkémia/reperfúzió és iszkémiás prekonkondicionálás hatásának vizsgálata a normál és hiperkoleszterinémiás szívizomban mikroRNS es mRNA profilra újgenerációs szekvenálás segítségével*

A kardiovaszkuláris megbetegedések, köztük az akut miokardiális infarktus a vezető halálokok közé tartoznak. Az akut miokardiális infarktus definitív terápiáját továbbra is a reperfúzió jelenti, azonban a reperfúzióknak gyakran vannak káros hatásai, melyeket összefoglalóan reperfúziós károsodásnak nevezünk. A reperfúziós károsodás a véráramlás visszatérésének káros következménye az iszkémiát követő szakaszban. Kísérletünk során a kardioprotektív hatású prekonkondicionálást vizsgáltuk. A prekonkondicionálás rövid iszkémiás periódusokkal hozható létre közvetlenül egy hosszabb iszkémia előtt. A hiperkoleszterinémia a kardiovaszkuláris betegségek, így az akut miokardiális infarktus, fő rizikófaktor. Korábban kimutattuk, hogy a prekonkondicionálás kardioprotektív hatása elvész hiperkoleszterinémiában. Munkánk során annak az okát vizsgáljuk, miért vesz el a protektív hatás. Ezért az iszkémia/reperfúzió és iszkémiás prekonkondicionálás hatását vizsgáljuk normál és hiperkoleszterinémiás szívizomban mikroRNS és mRNA profilra újgenerációs szekvenálással segítségével. Kísérletünkben hím Wistar patkányokban, 8 hétig tartó

2% koleszterinnel és 0,25% kólsavval dúsított táp etetésével hiperkoleszterinemiás állapotot hoztunk létre.

A koleszterinben gazdag diéta hatására szignifikánsan megemelkedett az állatok összkoleszterin szintje a kontroll csoporthoz képest. Az alap hiperkoleszterinemiás csoportban 54 gén transzkript szintjében tapasztaltunk eltérést a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az iszkémia/reperfúziós, illetve prekondicionált csoportok mikroRNS és mRNS analízisét is elvégeztük újgenerációs szekvenálás alkalmazásával. Az iszkémia/reperfúzióhoz képest az iszkémiás prekondicionálás normokoleszterinemiában 16 mikroRNS, míg hiperkoleszterinemiában 6 mikroRNS szintjében okozott szignifikáns expressziós szintbeli különbséget. Több olyan mikroRNS-t is azonosítottunk melyek eltérő módon változnak normo- és hiperkoleszterinemiában iszkémiás prekondicionálás hatására. Az mRNS szekvenálási adatok összegzése során az iszkémia/reperfúzióhoz képest az iszkémiás prekondicionálás normokoleszterinemiában 41, míg hiperkoleszterinemiában 106 mRNS szintjében okozott szignifikáns expressziós szintbeli különbségét. Továbbá a normokoleszterinemiában alkalmazott iszkémiás prekondicionáláshoz képest a hiperkoleszterinemiában az iszkémiás prekondicionálás további 51 gén expresszióját befolyásolta szignifikáns mértékben. Proteomikai analízist is végeztünk annak vizsgálatára, hogy a hiperkoleszterinémia milyen mértékben befolyásolja a szívizom proteomot. Eredményeink alapján a hiperkoleszterinémia jelentős mértékű génexpressziós változásokat indukál bal kamrai szövetben, valamint az iszkémiás prekondicionálás indukált mikroRNS és mRNS választ is befolyásolja, azonban a kapott eredmények szerepének tisztázása további kísérleteket igényel.

*A krónikus vesebeteg patkányokból származó iszkémia/reperfúciónak és iszkémiás prekondicionálásnak kitett szívizomból izolált RNS minták vizsgálata újgenerációs szekvenálással*

A szív-érrendszeri megbetegedések egyrészt gyakoribbak veseelégtelenségben szenvedő betegekben, másrészt egyik nemkívánt következményük a vesefunkció romlása lehet. A krónikus vesebetegségben megfigyelhető, a szívizmot érintő strukturális és funkcionális változásokról rendelkezésre állnak ugyan adatok, azonban a háttérben álló molekuláris mechanizmusok jórészt feltáratlanok. A projektben azt kívánjuk vizsgálni, hogy krónikus vesebetegség kísérletes állatmodelljében a szívizomban milyen változások történnek, különös tekintettel az ioncsatornák és transzporterek szerepére.

Az 5/6-od nefrektómián átesett állatokban megerősítettük a krónikus veseelégtelenség kifejlődését. A szív mind funkcionális, mind pedig morfológiai károsodás jeleit mutatta a veseelégtelen állatokban. Az új generációs szekvenálás

eredményeit kiértékelve, a krónikus vesebetegség hatására szignifikáns génexpressziós változást mutató transzkriptek között 2 csatornát azonosítottunk. A HCN4 (Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 4) kálium csatornát kódoló gén expressziója, valamint az AQP7 (Aquaporin 7) vízcsatornát kódoló gén expressziója egyaránt csökkent a szívizomban krónikus vesebetegség során. Igazoltuk, hogy a krónikus vesebetegség hatására egyes csatornák/transzporterek expressziója megváltozik a szívizomban, ezek szerepének tisztázása további kísérleteket igényel.

#### *Kinurénsav hatásának vizsgálata szimulált iszkémia/reperfúzió (SI/R) modellben*

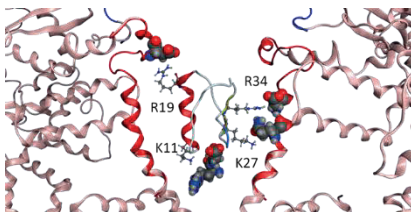
Kinurénsav (KYNA) egy endogén triptofán metabolit, amely neuroprotektív és immunszuppresszor szerként működik, azonban a szívizomra gyakorolt hatását alig vizsgálták. Kísérleteink során célunk megvizsgálni a KYNA hatását a szimulált iszkémia / reperfúzió (SI/R) modellben, valamint a potenciális védőhatás mögötti mechanizmus feltárása, különösképpen az apoptózis és autofágia folyamataira. Ehhez primer neonatális kardiomiocita tenyészeteket készítettünk újszülött Wistar patkányokból, és 20 órával az SI/R protokoll előtt és alatt különböző koncentrációban (8-512  $\mu$ M) KYNA-val vagy vívívőanyagával kezeltük.

Eredményeink szerint a KYNA-kezelés dózis függően védi a primer kardiomiocitákat az SI/R-indukált sejthalál ellen. A KYNA-kezelés szignifikánsan csökkentette a SI/R-indukált növekedést a kaspáz-3 és -7 aktivációban. Az SI/R során megnövekedett autofágia volt, amelyet a KYNA kezelés csökkent. Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy a KYNA antiapoptotikus mechanizmusok és az autofágia túlzott aktiválásának gátlása révén védi a szívizomsejteket az SI/R károsodástól. A közismert kardioprotekciós útvonalak nem vesznek részt a KYNA által indukált citoprotekcióban.

#### *Dr. Tóth Gábor (Orvosi Vegytani Intézet)*

A rianodin receptor család (RyR) egy intracelluláris kalcium csatorna családot jelent, ami számos állati szövetben megtalálható, így izom és idegsejtekben is. Az ismert kálium csatorna blokkoló charybdotoxin peptid gátolja a rianodin receptort is. Célul tűztük ki a charybdotoxinban található bázikus aminosavak egyedi szerepének tisztázását a rianodin receptor gátlásában, illetve szelektív gátlását a  $\text{Ca}^{2+}$  felszabadulásnak izomsejtekben módosított analógok által. A charybdotoxin szekvenciája (<EFTNVSCCTTSKECWSVCQRLHNTS**RGK**CMN**KK****RC**CYS) nyolc bázikus aminosavat tartalmaz. Diszulfidhíd mintázata: 7-28, 13-33, 17-35. Analógiák alapján feltételezhető, hogy valamelyik lizin vagy arginin kulcsszerepet játszik a gátlás

kialakulásában. Elsőként a K27N mutánt szintetizáltuk a vad típus mellett. A biológiai kísérletek, nem a várt eredményekkel jártak. A ChTx lipid bilayeres mérésben gátolta a rianodin receptort. Ismertek olyan toxinok, amelyek a hátukra fordulva gátolnak  $K^+$  csatornákat, ezért elkészítettük a K11N és R34Q mutánsokat. Debreceni partnereinknek kellő számú méréssel sikerült igazolni, hogy az R34Q mutáns nem gátolja a RyR csatornát, azaz a gátlás szempontjából ez az egyik kritikus aminosav, ami eltér a szokásos  $K^+$  csatornák esetén kritikus lizintől. Ez már önmagában is érdekes eredmény. A távolabbi célunk az lenne, hogy a toxinnal tudjuk gátolni a  $Ca^{2+}$  felszabadulást izomban, ezért további dokkolási mérésekkel próbálkoztunk. Bár az R34 erős kötési energiát mutat, ugyanilyen energiával kötődik a K27, illetve a K11 is, amiket az eddigi mutációs analízisek a kötődés szempontjából irrelevánsnak mutattak. Az R19 is tud kötődni ebben az esetben a RyR-hez, bár itt nagyobb a távolság. A kapott végtermékek diszulfidhíd mintázatának meghatározása, igazolása tömegspektrometriával történt.



A tenascin fehérjék extracelluláris mátrix glikoproteinek. Ezek a fehérjék bizonyos szakaszai nagyfokú homológiát mutatnak csatornablokkoló peptid toxinokkal, mint pl. margatoxin, anuroctoxin. Szekvencia homológia alapján feltételeztük a  $K^+$ -csatorna gátló hatást. A margatoxinnal homológiát mutató tenascin fehérje 203-240 fragmentsét szintetizáltuk először. Sajnos a margatoxin diszulfidhíd mintázatát (a-d, b-e, c-f) ebből a peptidből nem sikerült kialakítanunk. A más diszulfidhíd mintázatot tartalmazó izomerek viszont nem bizonyultak aktívak.

### *$K^+$ csatorna blokkoló peptidtoxinok szelektivitásának vizsgálata, analógok tervezése, szintézise*

Az iberiotoxin ( $\alpha$ KTx1.3), charybdotoxin ( $\alpha$ KTx1.1), kaliotoxin ( $\alpha$ KTx3.1) és agitoxin ( $\alpha$ KTx3.2) jól ismert, de nem kellően szelektív csatornablokkolók. Célul tűztük ki annak a lehetőségnek a megvizsgálását, hogy nagyobb szelektivitású kálium csatorna blokkoló peptidanalógokat tervezzünk és szintetizáljunk.

Az egyes aminosavak, illetve szekvenciárészletek a kifejtett gátlásra gyakorolt hatásának vizsgálatára több mutáns szekvenciát terveztünk és szintetizáltunk. Az elsőnek elkészített mutáns a következő: ZFTDVD**CS**GSKE**C**WSV**CKDA**FG**MR**FGK**CM**GKK**CR**CT**PK**, ahol Z= piroglutaminsav. A szekvencia az iberiotoxin, az agitoxin és a kaliotoxin hibridje. A debrecenben végzett elektrofiziológiai vizsgálatok szerint a változtatások miatt eltűnt a Kca1.1 hatás. A

negatív eredmények miatt új analógot tervezetünk és szintetizáltunk: ZFTDVCDSVSKECWSVCKDAFGMRFGKCMGKKCRCYQ.

A korábbi szekvencia módosítása visszahozta a BKCa aktivitást, de gyenge a BKCa és a Kv aktivitás. Az eddigi vizsgálatok alapján valószínűsítettük, hogy a nem kellő affinitást a KTx (GVEINVKCSGSPQCLKPCKDAGM**R**FGKCMNRKCHCTPK) és az AgTx (GVPINVSTGSPQCIKPCKDAGM**R**FGKCMNRKCHCTPK) 3. és 4. cisztein része között található arginin aminosav (pirossal jelölve) rossz pozíciója okozhatta. Ennek bizonyítására az alábbi analógot szintetizáltuk: ZFTDVCDSVSKECWSVCKDAFGM**R**FGKCMGKKCRCYQ. További új analógokat terveztük, hogy a VDR szekvenciárészlet hatását megvizsgálhassuk.

ZFTDVC**S**VSKE**C**WSV**C**KD**A**FG**RRR**GK**C**MGKK**C**RCYQ (ZFYQ-RRR)

ZFTDVC**S**VSKE**C**WSV**C**KD**A**FG**MRR**GK**C**MGKK**C**RCYQ (ZFYQ-MRR)

ZFTDVC**S**VSKE**C**WSV**C**KD**A**FG**DWR**GK**C**MGKK**C**RCYQ (ZFYQ-DWR)

ZFTDVC**S**VSKE**C**WSV**C**KD**A**FG**RWR**GK**C**MGKK**C**RCYQ (ZFYQ-RWR)

ZFTDVCDSVSKECWSVCKDAGMRFGKCMGKKCRCYQ (desF21ZFYQ)

Az elektrofiziológiai vizsgálatok szerint néhány esetben ugyan javult a szelektivitás, de az aktivitások elmaradtak a várttól. További elméleti kémiai számítások végzése után a következőt kaptuk: az IbTx R25 sóhidat képez a BKCa csatorna D357, V358 aminosavaival. A következőkben az R25 (IbTx) rész szubsztitúciója történt citrullinra, méretük közel azonos, cél volt az elektrosztatikus kölcsönhatás ellenőrzése. Továbbá a 30-as és a 34-es aminosav is kitüntetett szerepűnek tűnik, ezért még a G30diaminovajsav és a R34E mutánsokat is szintetizáltuk.

## Vaszkuláris kutatások

Dr. Mezei Zsófia (Kórélettani Intézet): Sigma-1 receptor (Sig-1R) agonista hatásának vizsgálata, a kardiovaszkuláris szövődmények kialakulásában szerepet játszó vérlemezke funkcióira

Vérlemezkek szerepet játszanak a vérzéscsillapításban, gyulladásban és immunfolyamatokban is. E folyamatok során a vérlemezke aktiválódik, aminek következtében fokozódik arachidonsav (AA) metabolizmusa. A keletkezett eikozanoidok részt vesznek a vérlemezke-funkció és vaszkuláris reakció szabályozásában is. Az ép ér endotél által szintetizált, prosztaciklin értágító, és vérlemezke aktivitást csökkentő. Diabétesz mellitusban (DM-ben) és fokozott triglicerid, koleszterin bevitel esetén is endotheliális diszfunkció lép fel, ami vérlemezke aktiválódást eredményez. A telített zsírsav dús (SF) diéta alkalmával az endotél, valamint a vér alakos elemeinek membrán szerkezete, és funkciója is megváltozhat. A Sig-1R a membránok kettős lipidrétegébe inkorporálódó protein. Sig-

1R kapcsolatba kerülhet ioncsatornákkal, intracelluláris hírvivőkkel egyaránt. Az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  regulálásában, az oxidatív károsodás megelőzésben, és a kóros fehérjék eltávolításában részt vevő anyagoknak terápiás jelentősége lehet. E hatások módosítására adhat lehetőséget a Sig-1R működésének regulálása.

Célunk volt a Sig-1R jelenlétének igazolása patkány vérlemezkékben. Továbbá, Sig-1R agonista, PRE-084 *ex vivo* hatásának vizsgálata egészséges, telített zsírsav dús diétán tartott, diabétesz mellitusban, valamint szívelégtelenségben szenvedő, hím patkányok vérlemezke funkciójára. A PRE-084 egészséges patkányok abdominális aortájának arachidonsav metabolizmusára kifejtett hatásának tanulmányozása.

Immunhisztokémiai eljárással, konfokális lézer mikroszkóppal együttműködő partnereink (Deli et al., MTA, SZBK, közlés alatt) segítségével ki tudtuk mutatni, Sig-1R jelenlétét patkány vérlemezkékben. PRE-084 koncentrációjának ( $0-1-2-4-8 \times 10^{-6}$  mol/L) növelésével párhuzamosan fokozódott a vérlemezke aggregáció sebessége és maximuma is két induktor molekula (ADP vagy AA) alkalmazása esetén. Egészséges patkányok vérlemezkéiben a PRE-084 fokozta a lipoxigenáz (LOX) és a ciklooxygenáz (COX) úton képződő AA metabolitok összmenyiségét is, az agonistát nem tartalmazó kontrollhoz viszonyítva. Az agonista fokozta a COX úton létrejövő tromboxán (Tx) szintézisét. Diabéteszes állatmodell létrehozását fizikális és laboratóriumi vizsgálattal is igazoltunk. DM állatok vérlemezkéinek eikozanoid szintézise szignifikáns mértékben nem különbözött a kontroll csoportétól.  $2 \times 10^{-6}$  mol/L PRE-084 azonban fokozta a COX és a LOX úton képződő arachidonsav metabolitok összmenyiségét, a Tx és  $\text{PGD}_2$  szintézisét is, az egészséges és DM állatok vérlemezkéiben is. DM vérlemezék azonban szignifikánsan több  $\text{PGD}_2$  képeztek PRE-084 hatására, mint az egészséges állatok. Aortocavalis sönt kialakításával volumenterhelést hoztunk létre, ami 3 hónap alatt kompenzált, ejekciós frakciót megtartó szívelégtelenség kialakulásához vezetett. Volumenterhelés hatására létrejött szívizom hipertrófia eredményezte a szívmegegyarobbodást. Kompenzált szív működés kialakulását támasztja alá az ödéma jelenlétének hiánya. HF állatok vérlemezkéi kevesebb Tx-t képeztek, mint az egészséges állatok. PRE-084 fokozta mind a HF, mind az egészséges állatok vérlemezkéinek Tx szintézisét. Legkisebb hatásos dózis  $2,5 \times 10^{-6}$  mol/L volt. E hatást ELISA vizsgálataink is alátámasztották. A telített zsírsav dús diétán tartott szívelégtelen állatok vérlemezkéinek Tx szintézise kisebb mértékű volt, mint az álműtött állatoké. PRE-084 képes volt fokozni a normál és az SF diétán tartott állatok vérlemezkéinek AA metabolizmusát is. Egészséges patkányok hasi aortájának eicosanoid szintézisét gátolta a PRE-084. A COX össztermékek mennyiségének csökkenése nagyobb mértékű volt, mint a LOX úton képzőké.



A Sig-1R jelenléte vérlemezkékben, lehetőséget biztosít a receptor agonisták és antagonisták specifikus kötődésére. A primér aggregáció fokozódása a PRE-084 vérlemezkékre kifejtett direkt hatására utalhat. A szekunder aggregáció a vérlemezke intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációjának, vezikulum tartalmának és szekréciós tevékenységének függvénye. A primér és szekunder aggregáció közötti különbség a PRE-084 intracelluláris szignalizációra kifejtett hatására utalhat. Az induktorok közötti különbséget eltérő intracelluláris hatásaik idézhetik elő.

PRE-084 *ex vivo* eikozanoid szintézisre kifejtett hatása, egészséges és kóros (*in vivo* vérlemezke aktivációval járó) állapotokban hasonló volt. Ennek oka lehet, a vérlemezkék kóros körülményhez történő adaptációja, vagy hogy a PRE-084 befolyásolja a vérlemezkék egyéb intracelluláris szignalizációs folyamatait. Aorta *ex vivo* AA metabolizmusa a vérlemezkékkel ellentétesen változott. Ezen tényezők arra utalnak, hogy a Sig-1R-nak *in vivo* regulatoros szerepe lehet. Fontos kutatásainkat *in vivo* folytatni, valamint feltárni a PRE-084 egyéb intracelluláris szignalizációs útvonalaival.

*Dr. Varga Gabriella, Dr. Érces Dániel (Sebészeti Műtéttani Intézet): A metán inhaláció hatásának vizsgálata az extracorporális keringés által kiváltott gyulladásos reakciókra*

Az extracorporális keringés másodlagos gyulladásos szövődményekkel jár. Korábban már kimutattuk a metán kezelés kedvező hatásait a gyulladásos reakciókra, egy nagyállat modellben vizsgáltuk az exogén metán alkalmazás hatásait egy extracorporális perfúzió modellben. Eredményeink alapján a bioaktív gázok, mint például a metán, ha az extracorporális keringés oxigenátor egységében alkalmazzuk, mérsékli az extracorporális keringéssel járó gyulladásos mellékhatásokat, mely felveti a kezelés potenciális hasznát klinikai körülmények között is.

*Dr. Hartmann Petra (Sebészeti Műtéttani Intézet): Metánnal dúsított perfúziós folyadék hatása szív iszkémia-reperfúzió során kialakuló mitokondriális diszfunkcióra ex vivo patkány modellben*

Korábbi kísérleti eredmények a metán ( $\text{CH}_4$ ) lélegeztetés mitokondriumokra gyakorolt védő hatását igazolták iszkémia-reperfúziós (IR) károsodások során. Mivel a keringésen át történő bevitel következményei eltérők lehetnek, és a  $\text{CH}_4$  inhaláció számos kísérleti és klinikai helyzetben nehezen kivitelezhető, célul tűztük ki a  $\text{CH}_4$  folyadékokban történő alkalmazásának vizsgálatát. Kísérleteink célja a  $\text{CH}_4$ -al dúsított szerv perfúzió biológiai hatásának meghatározása volt *ex vivo* IR során. A metánnal



dúsított perfúziós oldat védő hatása *ex vivo* IR során, a mitokondriumok struktúrájának és funkciójának megőrzése hozzájárul az infarktus méretének csökkentéséhez.

Dr. Juhász László, Dr. Poles Marietta, Rutai Attila (Sebészeti Műtéttani Intézet): A mikrokeringési-mitokondriális reszuszcitáció lehetősége endothelin receptorok farmakológiai befolyásolásával szeptikus patkányokon

A szepszis progressziójának lényeges eleme a szöveti oxigén adósság, amely létrejöttében kulcsszerepet játszhat az endothelin (ET) rendszer aktivációja. Korábbi vizsgálataink során felmerült, hogy a szelektív ET-A receptor antagonist (ETAr[-]) adása fokozza az oxigénszállítást, míg ET-B receptor agonista (ETBr[+]) kezelés javítja a hipotenziót kísérletes szepszisben. Jelen kísérleteink célja a szelektív és a kombinált ETAr[-] és ETBr[+] terápia mikrokeringési és mitokondriális hatásainak vizsgálata volt. Az ETBr[+] kivédte a perfúziós ráta csökkenését, míg az ETAr[-] javította a mitokondriális respirációt és fenntartotta a mitokondriális külső membrán intaktaságát. A két terápia együttes alkalmazása egyesítette a szelektív kezelések kedvező mitokondriális és mikrokeringési hatásait.

Dr. Érces Dániel, Dr. Varga Gabriella (Sebészeti Műtéttani Intézet): Exogén metánkezelés hatása az extrakorporális keringést követően kialakuló veseszövődmények befolyásolására

A nyitott szívűműtétek számos formájánál szükséges az extrakorporális keringés (ECC) alkalmazása. A testből kivezetett vér és az ECC-berendezés idegen felületeinek érintkezése gyulladásos kaszkád rendszereket aktivál, amely szisztémás gyulladásos reakció kialakulásához vezet. Korábbi vizsgálatainkban igazoltuk az exogén metán terápiás hatékonyságát ischaemia-reperfúziós károsodások kísérletes modelljeiben, így megvizsgáltuk a metán kezelés lehetséges szerepét és hatékonyságát az ECC szövődményeinek mérséklésére. Eredményeink azt mutatják, hogy a metánkezelés ígéretesnek tűnik az oxidatív stressz- és az ECC-t kísérő szisztémás immunválasz csökkentésére, részben a xantin oxidoreduktáz aktivitás modulálásán keresztül.

Dr. Szabó Andrea, Dr. Poles Marietta (Sebészeti Műtéttani Intézet): Az endotheliális glycocalyx károsodása kísérletes szepszisben, a gyulladásos citokinek lehetséges szerepe

Az endotheliális glycocalyx (GX) fontos védő funkciókkal rendelkező struktúra, melynek károsodása szeptikus körülmények között korrelál a betegség mortalitásával a klinikumban. Kísérleteinkben a GX degradáció és a gyulladásos citokin termelődés időbeli összefüggését vizsgáltuk szepszisben. Szepszis során a GX réteg károsodása már az enyhe klinikai tünetek stádiumában, a korai citokin válasszal egy időben kimutatható volt. Ez alapján a korai gyulladásos válasz és a GX degradáció között ok-

okozati kapcsolat feltételezhető, mely a korai endothelium károsodás mechanizmusa lehet szepszisben.

Dr. Szabó Andrea (Sebészeti Műtéttani Intézet): Cél-vezérelten alkalmazott krisztalloid és kolloid oldatok hatásai a szabad lebeny mikrokeringésére prospektív randomizált klinikai tanulmányban

A krisztalloid és kolloid oldatok mikrokeringési hatásainak összehasonlítása rendszerint nehézségekbe ütközik, mivel a betegek hemodinamikai stabilitásának elérése rendszerint eltérő kritériumok alapján történik. A jelen kutatás (randomizált kontrollált klinikai tanulmány) célja az volt, hogy ezen oldatok mikrokeringési hatásait egy részletes hemodinamikai kritériumokon alapuló algoritmus alkalmazása mellett hasonlítsuk össze.

Maxillofacialis tumoros betegeket vontunk be a tanulmányba, akiknek defektusát szabad lebeny transzplantációval oldották meg sebészileg. A csoportok hemodinamikailag stabilak voltak, de ezt mintegy 1,5x nagyobb mennyiségű Ringerfundin oldattal értük el. Az eredmények azt mutatják, hogy amikor a folyadékterápia részletes hemodinamikai kritériumokon alapuló algoritmus alkalmazása mellett zajlik, nagyobb mennyiségű krisztalloid oldat szükséges a hemodinamikai stabilitás eléréséhez, ugyanakkor ez hasonló mikrokeringési hatásokat eredményezhet a lebeny mikrokeringése vonatkozásában.

Dr. Szabó Andrea (Sebészeti Műtéttani Intézet): A végtag ischemia/reperfúzió mikrokeringési hatásai krónikus biszfoszfonát kezelésben részesülő ovariektomizált patkányokon

A nitrogén tartalmú biszfoszfonátok (BIS) az osteoporosis egyik standard terápiáját képezik, azonban néhány esetben az állcsontok osteonecrosisát okozhatják. Ebben a kezelés mikrokeringési mellékhatásai is szerepet játszhatnak. A végtag ischemia a fehérvérsejt rollingban és kitapadásban szignifikáns emelkedést okozott az álműtött és ovariektómiát állatokban, mely átmenetileg fokozódott a zoledronát hatására. A TNF-alpha szintekben nem volt különbség a zoledronát hatására, sőt a CD11b expresszió csökkenést mutatott. A jelen kísérletek nem igazolják a krónikus zoledronát kezelés mikrokeringési mellékhatásait a tibiális csontthártyában.

Dr. Hartmann Petra (Sebészeti Műtéttani Intézet): Krónikus alkoholfogyasztás ízületi gyulladásra gyakorolt hatása patkány modellben

Krónikus alkohol adagolása károsítja a polimorfonukleáris (PMN) leukocita funkciókat. Célunk az volt, hogy felmérjük a tartós etanol kezelés milyen hatással van a karragenin indukálta térd synoviális gyulladására, mely elsősorban a PMN

aktiváción keresztül valósul meg. Eredményeink azt mutatják, hogy a kísérletes térdizületi gyulladás korai fázisa jelentősen mérséklődött a krónikus alkohol fogyasztásnak kitett állatokban. A synovia mikrokeringésében fellépő gyulladásgátló hatás a PMN leukociták megváltozott adherens tulajdonságával hozható kapcsolatba.

Rutai Attila, Dr. Érces Dániel, Dr. Poles Marietta, Dr. Szabó Andrea (Sebészeti Műtéttani Intézet): A szervkárosodás, a mikrokeringési diszfunkció és a gyulladásos mediátorok képződésének vizsgálata kísérletes szepszis modellben törpesertésen

A szepszis a szervezet fertőzésre adott diszregulált reakciója, mely életet veszélyeztető szervi diszfunkciókhoz vezet. A szervkárosodás súlyosságának értékelése leginkább a szekvenciális szervi elégtelenséget meghatározó Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) pontrendszerrel végezhető. A szepszis progresszió folyamatát mikrokeringési diszfunkció és gyulladásos mediátorok képződése jellemzi. Kísérleteinkben megvizsgáltuk a SOFA pontrendszer által jelzett szervkárosodás és a mikrokeringési elégtelenség összefüggését a gyulladásos citokin szintekkel, a pro-inflammációs szignálokkal és sejt nekrózis hatására képződő high mobility group box 1 (HMGB1) plazma szintekkel kísérletes szepszis modellben. Eredményeink alapján a szublingvális mikrokeringés romlása független a szepszis-indukált szervkárosodástól, ugyanakkor a gyulladásos paraméterek közül a TNF-alfa és a HMGB1 szintjeinek monitorozása alkalmasnak látszik a súlyos szervkárosodás jelzésére, így változásuk potenciális prognosztikai jelentőségű lehet.

Dr. Érces Dániel, Dr. Varga Gabriella (Sebészeti Műtéttani Intézet): Csökkent hízósejt aktiváció és megtartott vérlemezke funkció metán belélegeztetést követően kísérletes kardiogén shockban

A gasztrointesztinális keringési zavarok következtében kialakuló szövetkárosodásban fontos szerepet játszik a mucosa hízósejtek degranulációja, valamint a vérlemezke funkció megváltozása. Megvizsgáltuk, hogy a korábbi kísérleteinkben gyulladáscsökkentőnek bizonyult normoxiás metán-levegő keverék hatást gyakorol-e a hízósejt degranulációra, valamint a vérlemezke reaktivitásra. Eredményeink alapján a metán belélegeztetésével a hypoperfúzió következtében kialakuló hízósejtek degranuláció és vérlemezke diszfunkció jelentős csökkenése érhető el.

Dr. Érces Dániel, Dr. Varga Gabriella (Sebészeti Műtéttani Intézet): téma: Az extrakorporális membrán oxigenizáció (ECMO) hatásainak vizsgálata és befolyásolása nagyállat modellen

Intenzív terápiás ellátás során súlyos akut légzési elégtelenség esetén szükség lehet a tüdő támogatására extrakorporális membrán oxigenizáció (ECMO)

formájában. Az ECMO kezelés azonban egy komplex gyulladásos válaszreakciót válthat ki, melynek következtében a vékonybél nyálkahártya mikrokeringésének károsodása, csökkent szöveti oxigenizációja és a nyálkahártya barrierfunkciójának romlása, valamint súlyosabb esetekben akár szepszis alakulhat ki. Ebből adódóan a barrierfunkció megőrzése elengedhetetlen a kielégítő szervműködés fenntartásához. Kidolgoztunk egy olyan modellt, melyben a hosszú távú ECMO kezelés szövődményeként kialakuló gyulladásos válasz és a velejáró mikrokeringés-romlás vizsgálható, illetve terápiás beavatkozások hatása számszerűsíthető.

Eddigi eredményeink alapján a nagyállaton kialakított, klinikailag is releváns ECMO modell alkalmas lehet terápiás beavatkozások hatásainak számszerű értékelésére.

## ***Vázizom kutatások***

*Dr. Keller-Pintér Anikó (Biokémiai Intézet): A GLUT4 transzporter transzlokációját befolyásoló mechanizmusok vizsgálata*

A vázizom jelentős tömegének köszönhetően kiemelkedő szerepet játszik a szervezet anyagcseréjében. A legnagyobb tömegű inzulin-érzékeny szövetként döntően a vázizom glükózfelvétele felelős az étkezést követően megemelkedett vércukorszint csökkentéséért. A zsírszövetben és az izomszövetben a GLUT4 glükóztanszportert tartalmazó vezikulák alapállapotban főként a perinukleáris térben találhatóak, majd inzulin hatására a citoplazmából a plazmamembránba helyeződnek, amely a glükózfelvétel fokozódásához és a vércukorszint csökkenéséhez vezet. A népegészségügyi problémát jelentő 2-es típusú cukorbetegség esetén a GLUT4 mennyisége csökkent és a transzlokációja zavart. A GLUT4 vezikulák inzulin-függő áthelyeződését az Akt2/AS160/Rab-GTP-ázok jelút, az aktin citoskeleton Rac1-GTP-áz mediált átépülése, míg inzulin-független módon a kalcium/AMPK/AS160 útvonal szabályozza. Jelenleg csak egy olyan gyógyszer (metformin) elérhető, amely a GLUT4 vezikulák transzlokációjának fokozásával a glükózfelvételt javítja. A vázizom glükózfelvételében szerepet játszó mechanizmusok pontosabb megismerésével az inzulin-rezisztencia, 2-es típusú diabetes terápiájában új lehetőségek nyílnak.

Célkitűzés: A syndecan-4 egy transzmembrán, heparán-szulfát proteoglikán és az aktin sejtvázhoz kapcsolódik, továbbá képes irányítani az aktin átrendeződését, mely nélkülözhetetlen az excitózishoz. A lipidfelvételben is szerepet játszó syndecan proteoglikánok metabolikus hatása a vázizomban még tisztázatlan, így célunk volt a syndecan-4 metabolikus és mitokondriális szerepének vizsgálata *in vitro*. Továbbá vizsgáltuk a jelentős antioxidáns tulajdonságú karotinoid astaxanthin hatását a vázizom glükózfelvételében szerepet játszó jelpályák aktivitására *in vivo* modellben.

Módszerek: C2C12 egér myoblast sejtekben shRNS-el csendesítettük a syndecan-4 expresszióját. Az astaxanthin etetett és kontroll egerek biceps femoris és pectoralis izmait eltávolítottuk és homogenizáltuk. A fehérjék mennyiségét és aktivációját Western blot technikával vizsgáltuk. A mitokondriális respirációt Oroboros O2k respirométerrel, a sejtek 2-[18F]fluoro-2-deoxi- $\beta$ -D-glükóz (18FDG) felvételét Packard Cobra II gamma counterrel mértük. A lipidek minőségi és mennyiségi elemzését tömegspektrométeren direkt injekciós stratégiával végeztük.

Eredmények: A syndecan-4 proteoglikán csendesítése szignifikánsan fokozta glükóztranszportot aktiváló AS160 foszforilációját és a sejtek 18FDG felvételét, míg az AMPK foszforilációját és a PGC-1 $\alpha$  expresszióját csökkentette a syndecan-4 csendesítés. A syndecan-4 csendesítésre fokozódott a sejtek inzulin érzékenysége. A csendesített sejtek mitokondriális alap respirációja emelkedett, továbbá az elektrontranszport rendszer (ETS), rezerv kapacitás és oxidatív foszforilációs oxigénfogyasztása is megnőtt. A csendesítésre csökkent a ceramid, a kardiolipin és a koleszterin-észter szintje. A szövetekben felhalmozódó zsírsavak metabolizmusa során képződő ceramid csökkenti az inzulin válasz hatékonyságát, továbbá a mitokondrium biogenezisében kulcsfontosságú PGC-1 $\alpha$  és a kardiolipin szerepet játszhatnak az inzulinrezisztenciában a mitokondriális funkciók befolyásolásával. Eredményeink alapján a syndecan-4 hatással van a sejtek glükóz felvételére és lipid összetételére, melyek révén befolyásolhatja a mitokondriális légzést. A syndecan-4 csendesítésre fokozódott mitokondriális funkciók képesek leszabályozni az AMPK/PGC-1 $\alpha$  jelutat. Az astaxanthin kezelés megnövelte az AS160 foszforilációját pectoralis és biceps femoris izommintákban egyaránt, valamint a PGC-1 $\alpha$  szintje is emelkedett.

Következtetések: A syndecan-4 csendesítése növeli a vázizomsejtek glükózfelvételét és fokozza a sejtek inzulin iránti érzékenységét. A syndecan-4 GLUT4 transzlokációjában szerepet játszó molekulák aktivitását befolyásolja, továbbá hatást gyakorol a mitokondriális légzésre, és az expressziójának csökkentése a mitokondriális funkció fokozásával leszabályozza az AMPK/PGC-1 $\alpha$  jelutat. Az antioxidáns astaxanthin kezelés hatására bekövetkező molekuláris változások magyarázatot adhatnak az astaxanthin korábban leírt glükózanyagcserét javító szerepére. Bár a syndecan-4 főként a sejtadhézióban betöltött szerepéről ismert, jelen kutatásaink a metabolizmusban betöltött funkciójára is rávilágítanak. Az adhézións molekulák metabolikus szerepe nem egyedi, az integrinek vagy FAK esetén már ismert az erre vonatkozó irodalom.

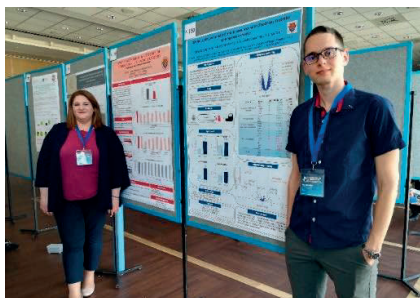
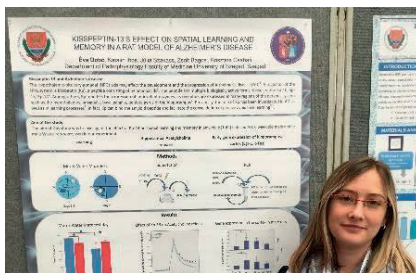
Dr. Zádor Ernő (Biokémiai Intézet)

A 20-hidroxiekdizon (20E), egy növényi ekdiszteroid, a rovarok vedlési hormonja és széles körben (pl. testépítők által) alkalmazott táplálék kiegészítők alkotója. Korábban leírtuk a 20E hatását a patkány soleus (lassú izom) és az EDL (gyors izom) rostjaira. Mások kimutatták, hogy a 20E bomlástermékeként a vizeletben azonosítható egy másik fitoekdiszteroid, a poststerone. Célunk az volt, hogy az oldalláncot alig, de a szteroid magot teljes egészében tartalmazó poststerone izomra gyakorolt hatását összehasonlítsuk az oldalláncot tartalmazó 20E hatásával. A poststerone-t naponta injektáltuk a patkányok egyik hátsó lábába, a soleus és EDL izom környékére és egy hét után az állatok izomsúlyát és immunfestés után az izomrostok keresztmetszetét mértük. A poststerone kismértékben eltérő, de lényegében hasonló hatást gyakorolt az izomrostok méretnövekedésére mint a 20E. A 20E és a poststerone izomnövelő hatását valószínűleg a szteroid mag okozza és nem valószínű az oldallánc hasonló hatása.

A patkány soleus izom regenerációja az egész izomban serkenthető néhány izomrost viszonylag kevés mionukleuszának *in vivo* transzfektálásával. A hatás domináns negatív Ras fehérjét és SERCA1b shRNS-t kifejező plazmidok transzfekciójával mutattuk ki. Felmerült, hogy a hosszú nem kódoló RNS-nek (lncRNA) vélt transzkriptek által kódolt SERCA gátló mikropeptidek (DWORF, mioregulin, endoregulin, another-regulin) rendelkezhetnek-e a SERCA1b sh RNS-hez hasonló izomregenerációt serkentő hatással. A célkitűzés a regenerálódó soleus izom transzfektálása SERCA1b gátló mikropeptidekkel és az izomnövekedésre gyakorolt hatásuk elemzése volt. Sikerült beszerezni a mikropeptideket fluoreszcen-tagged és jelöletlen formában is. A mikropeptideket kódoló plazmidok elérhetők és a további tervezett felhasználás céljából amplifikálhatók.



## Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról





„Presidential Award” és „Poster Award” nyertese Rutai Attila (balról a második).



Dr. Poles Marietta előadása a WiSe3 konferencián.



A „FEBS3+ From molecules to living systems” nemzetközi konferencián bemutatott” poszter és szerzője Köhler Zoltán Márton, aki a konferencia poszter díjában részesült.



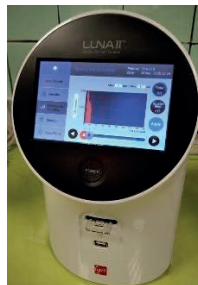
SZTE ÁOK Izomadaptációs kutatócsoport.



## A Szegedi Tudományegyetem által beszerzett jelentősebb eszközök



*Nanodrop: génexpressziós vizsgálatok során egy csepp folyadék DNS vagy RNS tartalma pontosan meghatározható és annak tisztasága jól becsülhető a készülékkel.*



*LUNA-II automata sejtszámláló: A modern műszerrel a korábban sejtszámlálásra használt és mára elavult Bürker kamrák lettek leváltva. A sejtszámon felül további fontos adatokat is meg lehet tudni a vizsgált sejtekről.*



*PHCbi típusú -80 °C-os fagyasztó: a fagyasztó a kutatás során szükséges minták tárolásához elengedhetetlen.*



*Olympus IX 73 fluoreszcens mikroszkóp: funkcionális vizsgálatok végzése, mely során a létrehozott organoid kultúrák transzportereinek működését karakterizálják a kutatók.*



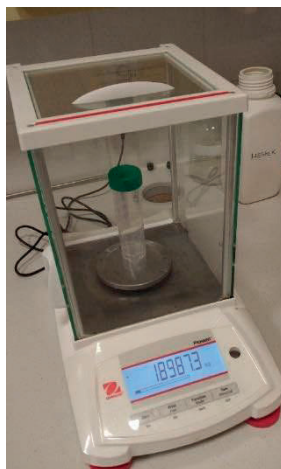
*Millivac Mini Vákuumpumpa.*



*4FET VET Rádiófrekvenciás elektroauter és elektródaszett.*



Üveggyöngy sterilizátor (hot bead sterilizer).



Analitikai mérleg, 10 mg-210 mg.



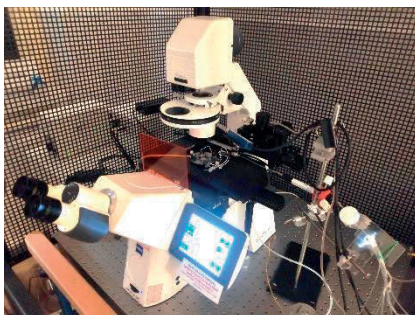
Jégpehely/-kása készítő gép.



Asztali fűthető rázógép.



*A Crocodile mini Workstation spektrofotométer és az egyik laptop használat közben (Dr. Poles Mariatta balról, Dr. Juhász László jobbról).*



*Fluoreszcens mikroszkóp és patch clamp rendszer*

# Pécsi Tudományegyetem

Projektért felelős vezető: Dr. Hegyi Péter

## **Alprojekt-1 (PTE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése a Pécsi Tudományegyetemen**

A kutatási projektek előkészítését szolgálva, 2017. szeptember 19-én Pécsen, a Hotel Makár Sport & Wellness Rendezvényközpontban több mint 50 fő részvételével megrendezésre került a pályázat nyitórendezvénye. A rendezvényen a Projekt összes szegedi, debreceni és pécsi munkacsoportja, valamint a közös PTE/SE (pécsi/budapesti) munkacsoport képviseltette magát és röviden ismertette a projekt keretében tervezett kutatási programját. A nyitórendezvény lehetőséget biztosított a kutatási programok további összehangolására.

2017. szeptemberétől megkezdődött a projekt keretében alkalmazásba kerülő, illetve az abban résztvevő fiatal kutatók, illetve egyetemi alkalmazottak bevonása a pályázati munkába. A Projekt PTE-s résztvevőin túl, elsőként egy külföldről hazatért gasztroenterológus szakorvost, Dr. Erőss Bálintot, illetve egy nemzetközi hírű, bostoni genetikai kutatólaboratóriumból hazatért, a hasnyálmirigy kutatásokban jártas posztgraduális orvosot, Dr. Hegyi Esztert, sikerült bevonnunk a projektbe. Dr. Erőss Bálint vezetésével megkezdődött a magas színvonalú, a nyelőcső betegségek, illetve nyelőcső rák, valamint a *Helicobacter pylori* fertőzések és gasztrointesztinális vérzések témájára fókuszáló gasztroenterológiai klinikai kutatás, melynek keretében szisztematikus összefoglalók és meta-analízisek publikálása mellett, klinikai betegregiszterek kerültek indításra, retrospektív klinikai vizsgálat és új, prospektív klinikai vizsgálat is indult. Dr. Hegyi Eszter vezetésével Transzlációs Molekuláris Genetikai Kutatólaboratórium kialakítására került sor és magas színvonalú állatkísérletes és humán mintákra támaszkodó gasztroenterológiai genetikai és molekuláris biológiai alapvető kutatási tevékenység szerveződött. A hazatért fiatal kutató tovább folytatta sikeres együttműködését a bostoni kutató laboratórium vezetőjével Dr. Sahin-Tóth Miklóssal azután is, hogy a neves kutató a Department of Surgery of the David Geffen School of Medicine at University of California in Los Angeles (UCLA) kötelékében folytatja kutatásait. Ez az együttműködés lehetővé teszi az élvonalbeli molekuláris genetikai kutató módszerek hazai meghonosítását, illetve több helyi PhD hallgatónak a nemzetközi kutatásokba történő bekapcsolódását. Így kapcsolódott be Takáts Amanda biológus, PhD hallgatónk amerikai kollaborációban a hasnyálmirigy gyulladás és a hasnyálmirigyet is érintő, cisztás fibrózis (CF) genetikai hátterének vizsgálata témájába.

A nemzetközi együttműködés keretében, a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézetébe értékes, génmódosított, C57BL/6N háttéren kifejlesztett, CPA1-N256K knock-in egerek érkeztek tenyésztés céljából, illetve kísérleti felhasználásra.

Ugyancsak a nemzetközi együttműködések rendszerét gazdagítja dr. Eitmann Szimonetta bevonása az osztrák Dr. Barbara Koflerrel (Research Program for Receptor Biochemistry and Tumor Metabolism, Department of Pediatrics, University Hospital of the Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria) való együttműködésbe, a galanin peptid család mediátorainak centrális anorexigén és hipermetabolikus hatásainak vizsgálata témájában.

A Projekt során nagy számú orvostanhallgató, PhD hallgató és fiatal kutató vett részt transzlációs irányú meta-analízis képzéseken, a klinikai betegregiszterek indítását célzó workshop-okon, statisztikai és kommunikációs tréningeken, továbbá klinikai vizsgálat képzéseken, melyeken számos alkalommal külföldi szakértők is részt vettek. E mellett, a PhD hallgatók és fiatal klinikusok folyamatos mentorálás és egyéni képzés mellett, bekapcsolódtak a magyar, angol és német nyelvű kórélettani orvoscépzésbe. Ez a gyakorlat nagymértékben emelte a fiatal kutatók magyar, angol és német nyelvű előadó és vita készségét. Mind a pályázatba bevont fiatal posztdoktorok és MSc-vel rendelkező fiatal kutatók száma, mind a doktoranduszok száma elérte a célul kitűzött hat-hat főt. A képzésekben résztvevő graduális hallgatók, PhD hallgatók, illetve fiatal oktatók száma közelíti a százat. 2019. szeptemberétől a Projekt keretében a Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet számos rezidense is bekapcsolódott a pécsi transzlációs medicina képzésekbe. Ezen fiatal szakemberek részvétele szintén elősegíti a jövőben a PTE jobb országos, illetve nemzetközi beágyazottságát. A Projekt során, 2019-től a PhD hallgatók és fiatal kutatók rendszeres, negyedéves Progress Report rendezvények kapcsán, angol nyelven számoltak be előre-haladásukról és az elért eredményekről. A Progress Report-okon erdélyi, horvát és szlovák vendég kutatók is részt vettek. Ezek a rendezvények is nagyban segítették a PTE nemzetközi beágyazottságának emelését.

A Projekt során két fiatal PhD hallgató védte meg doktori értekezését és szerzett sikeresen PhD fokozatot. Egy fiatal kutató, Dr. Varjú-Solymár Margit sikeresen habilitált és docensi kinevezést szerzett. Több, mint féltucat további PhD hallgató (Dr. Pécsi Dániel, Dr. Varjú Péter, Dr. Szakács Zsolt, Dr. Tinusz Benedek, Dr. Kéringér Patrik, Dr. Rumbus Zoltán, Takáts Amanda) tette le a PhD komplex vizsgát, illetve jutott el a PhD előbírálati szakaszba.

A Projekt keretében folyamatosan legalább négy klinikai adatmenedzser dolgozott a beteg regiszterek és klinikai vizsgálatok adatainak bevitelén, illetve feldolgozásán. Több biostatistikus vett részt a meta-analízisek, regiszter elemzések,

klinikai vizsgálati elemzések statisztikai tervezésében és komplex elemzésében. Ezek a humán erőforrás fejlesztések is nagy mértékben hozzájárultak a kutatási kapacitások fejlesztéséhez. A bevont hallgatók, doktoranduszok, fiatal klinikusok és klinikai adatmenedzserek részvételével nagyszámú szisztematikus összefoglaló közlemény és meta-analízis projekt készült. Az ezek alapján kidolgozásra kerülő klinikai betegregiszterek analízise révén kiemelkedő mértékben bővültek a klinikai gasztroenterológiai, kardiológiai, vaszkuláris és izom kutatási irányok.

A szisztematikus összefoglalók témaelmérései alapján, gasztroenterológiai klinikai betegregiszterek készültek a krónikus hasnyálmirigy gyulladás, a nem-alkoholos májkárosodások, az immuneredetű májkárosodások, a nyelőcső motilitási zavarok, a nyelőcső rák, a gasztrointesztinális vérzések, az immun eredetű bélbetegségek, az irritábilis bél szindróma, a cöliákia (lisztérzékenység), az endoszkópos retrográd cholangio-pancreatographia, a CF és szövődményei témakörében. A PTE/SE közös munkacsoport fogászati-gasztroenterológiai regisztereket dolgozott ki az orális precancerosus léziók és laphám carcinoma, az ajak- és szájpadhasadékok kezelése, a temporomandibularis rendellenességek, a parodontalis és peri-implantaris betegségek témaköreiben. Kardiológiai regiszterek épültek fel a krónikus teljes koszorúér elzáródások perkután coronaria intervenciója, a perfúzió és arrythmiák, a QT variabilitás és kardiovaszkuláris autonóm neuropathia diabetesben, illetve a 3D modellezéssel megvalósított coronaria rekonstrukció témaköreiben. A Projekt keretében vaszkuláris témájú beteg regiszterek is indultak a diabeteszes angiopathia és a vénás tromboembólia témájában. A Projekt keretében több klinikai vizsgálat is indult, pl. a HERMES vizsgálat, amely egy prospektív, keresztmetszeti klinikai vizsgálat, melynek célja a coeliakias és gyulladásos bélbetegségben szenvedő betegpopuláció haemorrheológiai változásainak igazolása, illetve a GOULASH PLUS vizsgálat, melynek célja a krónikus hasnyálmirigy gyulladás kialakulását befolyásoló tényezők felmérése és a korai kimutathatóság elősegítése.

A Projekt során a fiatal kutatók számos rangos nemzetközi fórumon (többek között a 51<sup>st</sup> Meeting of the European Pancreatic Club Bergen, Norway; az Európai Gasztroenterológiai Társaságok Egyesülete Konferenciája - UEG WEEK Barcelona, Spain; ESGE Days, Prague, Czech Republic; Tampere Celiac Disease Symposium, Finland; az Amerikai Hasnyálmirigy Társaság Éves Konferenciája) és hazai tudományos konferenciákon (pl. a Magyar Gasztroenterológiai Társaság, illetve a Magyar Élettani Társaság konferenciáin) publikálták a Projektben elért eredményeiket.

A Projektben, az eddigiekben több, mint 30 szisztematikus összefoglaló és meta-analízis közlemény, valamint regiszter analízis jelent meg rangos nemzetközi folyóiratokban.

## **Alprojekt-2 (PTE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés**

A Projekt PTE-s résztvevői nyomon követték a H2020 pályázati lehetőségeket. E mellett a PTE kutatói nagyszámú külföldi partnerrel vették fel a kapcsolatot, akik a jövőben elősegíthetik a PTE sikeres részvételét Európai Unió H2020 pályázatokon. A PTE ÁOK Biofizika Intézete például 2018-ban konzorciumi tagként adott be egy H2020-MSCA-ITN-2018 (Marie Skłodowska-Curie Innovative Training Networks) pályázatot, melyben a University of Lund (Sweden); a Technische Universität Dresden (Germany); a Linnaeus University (Sweden); a The Queen's University Of Belfast (UK); a Universität Hamburg (Germany); a Rijksuniversiteit Groningen (the Netherlands); az IBM RESEARCH GMBH (Switzerland); a Laboratório Iberico Internacional De Nanotecnologia (Portugal); a Chalmers Tekniska Högskola AB (Sweden); a Technische Universität Chemnitz (Germany); a Universität Stuttgart (Germany); az Eidgenössische Technische Hochschule Zuerich (Switzerland); a Politecnico Di Milano (Italy); a Biflow Systems GmbH (Germany); a Universität Wien (Austria); a Universidade Do Minho (Portugal); a Fluicell AB (Sweden); a Turbobeats GmbH (Switzerland); a Teadusmosaiik OÜ (Estonia) kutatóival és szakértőivel terveztek kollaborációt. A PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete 2020-ban újabb H2020 pályázat beadását tervezi.

A nemzetközi kapcsolatok fejlesztésében fontos esemény volt Dr. Denis Martinvalet (Department of Cell Physiology and Metabolism CMU; Geneva University, Switzerland) látogatása, vendég előadása és a vele folytatott szakmai megbeszélések. A neves vendég kutató 2017. decemberében érkezett a PTE Általános Orvostudományi Karára, hogy az EFOP projekt keretében előadást tartson szakmai kutatási területéről, a szabadgyököknek az immunvédekezésben és a citotoxicitásban betöltött szerepéről. Az előadás nagy sikert aratott és élénk vitát provokált a jelenlévő fiatal kutatók és a Projekt vezetői körében egyaránt. Az előadást megelőzően, illetve azt követően, a rangos vendégkutató megbeszéléseket folytatott szakmai együttműködésekről. A vendégprofesszor számos molekuláris biológiai módszertani kérdésben is megbeszéléseket folytatott az EFOP projekt fiatal kutatóival, tanácsokat adva azok kutatásainak továbbfejlesztése ügyében.

A Projekt keretében a PTE két, nagy sikerű, nemzetközi Transzlációs Medicina Konferenciát szervezett, rangos külföldi kutatók részvételével. Az első nemzetközi



Transzlációs Medicina Konferenciára 2018. november 24-25-én került sor Vecsésen. A konferencián részt vett többek között Dr. Julia Mayerle, a müncheni Ludwig-Maximilian Egyetem, Egyetemi Kórház, II. számú Belgyógyászati Klinikája igazgatója, Dr. Jason Bruce, a Manchester-i Egyetem, Élettudományi Kar, Tumor Kutató Divíziója kutató és oktató professzora és Xavier Molero, a Barcelona-i Önálló Egyetem, Vall D'Hebron Egyetemi Kórház, Kutató Intézet, Exocrin Pancreas, Kutatócsoport neves kutatója. A fiatal kutatók a szakma tapasztalt, rangos képviselőivel vitathatták meg eredményeiket és kutatási terveiket. A Konferenciához kapcsolódóan számos fontos szakmai kollaborációs megbeszélésre került sor.

A második nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia szintén kiemelkedő lehetőséget nyújtott a fiatal kutatóknak a szakmai fejlődésre és a kutatási témák megvitatására. Erre 2019. november 30. és december 1. között került sor Budapesten. A legrangosabb külföldi vendégek ezúttal Enrique de-Madaria (Alicante, Spain) a Hospital General Universitario de Alicante sikeres, fiatal gasztroenterológus kutatója, illetve Dr. Cristian Gheorghe (Bucharest, Romania), a bukaresti "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, rangos gasztroenterológus professzora voltak.

A PTE nemzetközi kutatási beágyazottságának további javításához nagymértékben hozzájárult a Dr. Erőss Bálint által, 2019. novemberében (2019.11.14-15) Pécsen szervezett Nemzetközi Nyelőcsőrák Nap és Klinikai Irányelv Képzés (a PTE harmadik, az EFOP Projekt keretében szervezett nemzetközi konferenciája), melynek kiemelkedő kutatási eredményekkel rendelkező, hepatológus, illetve endoszkópos szakértő vendég előadói (Dr. Charles Gordon, Dr. Earl Williams és Charles Clisby, Bournemouth, Egyesült Királyság), széleskörű, az együttműködés kialakítását célzó megbeszéléseket folytattak a hazai résztvevőkkel. A fiatal kutatók számára főként a klinikai vizsgálatok tervezéséről és a korszerű, nemzetközi klinikai guideline-ok kialakításának szabály rendszeréről tartottak fontos előadásokat.

A nemzetközi kutatási beágyazottság javulását Dr. Hegyi Eszter és munkatársai (Takáts Amanda PhD hallgató és Berke Gergő orvostanhallgató) Projektünkben való részvétele is segíti, aki továbbra is aktív kollaborációt tart fenn Dr. Sahin-Tóth Miklóssal (korábban a Boston University, Boston, MA, USA professzora, jelenleg a University of California, Los Angeles, UCLA, CA, USA vezető kutatója) a pancreas betegségek genetikai és molekuláris biológiai vizsgálatainak témakörben.

A PTE Projekt keretében több határon túli magyar és külföldi kutató dolgozik a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézetében: Dr. Hegyi Eszter (Dunaszerdahely, Szlovákia), Dr. Hegyi Péter Jenő (Dunaszerdahely, Szlovákia), Dr. Váncsa Szilárd (Marosvásárhely, Románia), Dr. Stefani Bunduc (Marosvásárhely, Románia), Dr. Eduard Oštarijaš (Rijeka, Horvátország).



A hálózatosodás elősegítésére, a Projekt keretében megállapodás született a székesfehérvári Fejér Megyei Szent György Kórházzal a 2. Magyar Transzlációs Medicina Központ megalakulásáról. Ez a lépés elősegíti nagyobb ellátási területről, több hazai beteg bevonását a regiszterekbe, illetve a későbbiekben indítandó, a krónikus betegségeket érintő klinikai vizsgálatokba.

Jelenleg is folyamatban van klinikai együttműködési megállapodás kidolgozása a budapesti Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézettel. Bár a szerződés kidolgozása még nem fejeződött be, de 2019. szeptemberétől a Projekt keretében a Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet hat rezidense kapcsolódott be a transzlációs medicina képzésekbe, illetve a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézet kutatási és oktatási tevékenységeibe. Dr. Párniczky Andrea a budapesti Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet főorvosa szoros kutatási együttműködést folytat Dr. Hegyi Péter professzorral, illetve a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézet kutatóival.

### **Alprojekt-3 (PTE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenység**

A Projekt keretében, mintegy 120 MFt értékben, nagy értékű kutatási eszközök kerültek beszerzésre, amelyek a gasztroenterológiai, kardiológiai és izom kutatási kapacitások minőségi fejlesztését és bővítését szolgálták. Ennek keretében, többek között beszerzésre került egy magas felbontású 24 csatornás vízperfúziós bélnyomásmérő, amely az irritábilis bél szindróma klinikai vizsgálatát segíti; egy nagy értékű fluoreszcens kutató mikroszkóp rendszer, amely a gasztroenterológiai és izom alapkutatások során az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  szignálok vizsgálatát teszi lehetővé, számos más molekuláris biológiai laboratóriumi eszközzel ( $\text{CO}_2$  termosztátok, nagy teljesítményű centrifuga, vízfürdők, pH mérő) együtt; egy  $-86^\circ\text{C}$ -os ultramélyhűtő a biobank kapacitás növelésére, a kardiológiai kutatásokat támogató  $\text{CO}_2$  termosztát és operáló mikroszkóp, illetve egy, az izom témakörben végzett, világszínvonalú alapkutatásokban alkalmazott, speciális mikroszkóp feltét.

### ***Gasztroenterológia***

A gasztroenterológia területén a Projekt keretében kialakításra kerülő Transzlációs Molekuláris Genetikai Laboratórium (vezető Dr. Hegyi Eszter) működése tovább javítja a PTE nemzetközi hálózatosodását. A fő kutatási terület továbbra is a hasnyálmirigy-gyulladás genetikai hátterének és molekuláris biológiai mechanizmusainak, valamint a CF genetikájának és patomechanizmusainak

elemzése. A laboratórium szoros együttműködést tart fenn olyan jelentős tudományos műhelyekkel, mint a Center for Exocrine Disorders, Department of Molecular and Cell Biology, Boston University Henry M Goldman School of Dental Medicine, Boston, Massachusetts, és a Department of Surgery, UCLA, Los Angeles, California, USA). A Laboratórium a betegségek kialakulásának okait és lefolyását humán genetikai vizsgálatok, fehérje biokémia, sejtes- és állatmodellek segítségével elemzi. Három humán asszociációs vizsgálat van folyamatban a Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoporttal együttműködésben, melyek során különböző gének (CASR, PRSS1 intronok, CEL hibrid) mutációinak hatása kerül elemzésre krónikus pancreatitisben.

A Transzlációs Molekuláris Genetikai Laboratórium további kutatási célja a hasnyálmirigy-gyulladás gyógy módjának alapkutatási, illetve transzlációs irányú kutatása. A Laboratórium fiatal kutatói genetikai asszociációs vizsgálatok segítségével újabb kockázati tényezőket azonosítanak krónikus pancreatitisben. A humán genetikai vizsgálatok a Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport által működtetett Országos Pankréász Regiszterrel, illetve a humán minták gyűjtésére és tárolására szolgáló Genetikai és Szövetbankkal való együttműködés keretein belül valósulnak meg. A Laboratóriumban olyan állatmodelleket alkalmaznak, melyekben a krónikus pancreatitis emésztőenzimek mutációinak hatására alakul ki. A cél ezzel a fent említett patomechanizmusok *in vivo* vizsgálata, a mutációk hatásának és a betegség kialakulásának pontos megértése.

A Laboratóriumban a genetikai asszociációs vizsgálatok további célja a krónikus, illetve akut hasnyálmirigy-gyulladásra hajlamosító egyéb tényezők kutatása. Többek között a calcium-sensing receptor (CASR), a karboxiészterlipáz (CEL) illetve a CFTR mutációinak hatásait is mélyrehatóan elemzik a pancreatitisek kifejlődésében.

Az állatkísérleteket illetően, modern állatház került kialakításra, amely lehetővé teszi az *in vivo* kísérleteket is. Spontán pancreatitises egértörzsben folyik a betegség patomechanizmusának kutatása.

A laboratórium kutatói a beszerzésre került két CO<sub>2</sub> inkubátor segítségével végzik az eddigiekben azonosított mutációk funkcionális analízisét különböző sejt kultúrákon (HEK293T, AR42J). A Laboratórium jelenleg működő metodikái közé tartozik a PCR, a gélelektroforézis, a kvantitatív real-time PCR, a Western blotting, a fehérjemeghatározás, a fehérjeaktivitás mérés, a klónozás, továbbá állatkísérletek, gén-, illetve fehérje expressziós kísérletek. A Laboratórium jelenleg az állatkísérletekben a génmutációk és a környezeti tényezők együttes hatását vizsgálja a hasnyálmirigy-gyulladás kialakulására és lefolyására.

A PTE gasztroenterológiai alapkutatásainak másik területe a PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében, Dr. Pintér Erika által irányított, a

pancreatitises fájdalom csillapítására irányuló vizsgálatok. A nemzetközileg elismert munkacsoport az érző idegvégződéseken található TRPA1 ioncsatorna és a csatorna agonistájaként működő hidrogén-szulfid, illetve poliszulfid vegyületek hatását elemzi a pancreatitist kísérő fájdalomra.

A kutatás fő eredménye az, hogy a TRPA1 csatorna jelenlétében a hidrogén-szulfidot ( $H_2S$ ) lassú ütemben felszabadító GYY4137 vegyület inkább védő hatású, míg a csatorna hiányában inkább fokozza a gyulladást. A szomatosztatin 4 (sst4) receptor génhiányos állatokkal végzett kísérletek alapján a védő hatást nem az idegvégződésekből felszabaduló szomatosztatin okozta, a kedvező hatás az sst4 receptorral nem rendelkező állatokban is létrejött. A védő hatás a TRPA1 vad típusú egerekben is megmutatkozott, a TRPA1 génhiányos állatokban a gyulladásos károsodás mértéke emelkedett volt. Emberi TRPA1 ioncsatornát expresszáló CHO sejteken végzett kalcium imaging kísérletek arra utaltak, hogy a hatásért nem közvetlenül a szulfid felelős. Szulfid oldat csak nagyon magas koncentrációban okozott kalcium jelet, ami TRPA1 aktiváció révén is létrejöhet. Ez a jelenség nem volt TRPA1 szelektív, mert a csatornát nem expresszáló sejtekben is látható volt a kalciumkoncentráció emelkedés. Ugyanakkor a több kénatomot tartalmazó poliszulfid már élettani koncentrációban is szelektíven aktiválta a csatornát. Hatása antagonistával gátolható volt és a receptort nem expresszáló sejtekben hiányzott. A GYY4137 oldata nem volt képes kalcium jelet előidézni. Ha azonban a GYY4137-et hipoklóros-savval együtt alkalmazták, a poliszulfid kezeléshez hasonló válasz jött létre. Ennek oka, hogy a szulfid hipoklóros-savval reagálva poliszulfidot képez. Ez a reakció a szervezetben a gyulladt szövetekben mehet végbe, mert főleg a neutrofil granulociták termelnek hipokloritot. Az eredmények azt mutatják tehát, hogy a GYY4137 a gyulladt, aktivált neutrofil sejteket tartalmazó szövetekben szelektíven működő poliszulfid donor. A kísérletek azt is igazolták radioimmunoassay segítségével, hogy a poliszulfid izolált egér bőr idegvégződéseiből szomatosztatint szabadít fel. Ez ugyancsak alátámasztja a TRPA1 csatorna aktivációt, bár a szérum transzfer artritiszben a szomatosztatin nem tűnt jelentős tényezőnek. A kutatási eredmények alapján már két Q1-es közlemény került publikálásra.

A PTE/SE közös gasztroenterológiai munkacsoportja, melyet pécsi vezetőként Dr. Nagy Ákos (PTE, KK Fogászati és Szájsebészeti Klinika) irányít, a fogpulpa eredetű mezenchimális progenitív sejtek neurogén irányú differenciálása témájában végez kutatást. A Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Fogászati és Szájsebészeti Klinikáján működő kutatócsoport együttműködve PTE ÁOK Élettani Intézet, Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoportjával és a PTE Szentágotthai János Kutató Központ Dr. Pongrácz Judit vezette Wnt jelátviteli kutatócsoport laboratóriumával, sebészi úton már eltávolított humán bölcsességfogak és kisírlők

szöveiteinek felhasználásával vizsgálja a fogeredetű progenitor sejtek differenciálódási képességeit, illetve a szövetregenerációban betöltött szerepét. A vizsgálat célja az, hogy humán maradó fogak pulpaszövetéből, valamint gyökérhártya rostjaiból progenitor sejtek izoláljon, és az így kapott sejtenyészeteket felhasználja *in vitro* kísérletekben. A kutatások kiterjednek a különböző irányokban történő differenciálódási folyamatokra, valamint ezen sejtek szövetregenerációban és immunmodulációban betöltött szerepének mélyebb megértésére. Neurogén differenciáltatást követően, a munkacsoport célja idegtudományi vizsgálatok tervezése (hálózatok létrehozása, jelátvitel elemzése, stb.), valamint újonnan kifejlesztett ható- és hordozóanyagok toxicitásának és biokompatibilitásának vizsgálata és kipróbálása fog eredetű sejtek alkalmazásával. A kísérletek során, az izolálást követően, a szövetdarabokat kollagenáz enzimmel való emésztésnek vetik alá, valamint Alpha MEM médiumban hoznak létre sejtenyészeteket. A sejtproliferáció mértékének meghatározása életképességi vizsgálattal történik. A sejtkultúrák differenciációs, valamint szövetregenerációs képességének jellemzését *in vitro* vizsgálatokban immunhisztokémia, Western-blot, elektrofiziológiai és RT-PCR technikákkal végzik. A fog eredetű sejtkultúrák létrehozása után, az a cél, hogy megfelelő körülmények között tartva a sejteket azok idegi irányba differenciálódjanak. Az előre differenciáltatott sejtek regenerációs állatkísérleti modellekben kerülnek felhasználásra. *In vitro* 3D idegi sejtálózat, idegtudományi modell létrehozása is a szerepel a célok között. A SE Orálbiológia Tanszék munkatársai segítségével, Dr. Hegyi Anita fiatal kutató, 12 hónapos kurzuson elsajátította a sejtekkel való labormunka alapjait, azok izolálását, tenyésztését, különböző irányú differenciálását, illetve a progenitor sejtek fagyasztását. A munkacsoport célja egy sejtbank létrehozása Pécsen, mely megalapozza a további kutatómunkát. Fontos cél a tudástranszfer alatt megszerzett tudás kamatoztatása, a differenciálás, valamint a morfológiai és funkcionális vizsgálatok Pécsen történő meghonosítása.

## **Kardiológia**

A PTE kardiológiai alapkutatásait dr. Halmosi Róbert professzor, az I. számú Belgyógyászati Klinika vezető kutatója irányítja. A kutatás célja a myocardium károsodások mitochondriális mechanizmusainak feltárása, terápiás célpontok azonosítása. A kutatócsoport munkáját a projekt keretében beszerzett CO<sub>2</sub> termosztát, illetve operáló mikroszkóp segíti.

A kardiológiai kutatások területén a meta-analízisek és klinikai betegregiszterek kategóriájában nagyarányú előrelépés történt. Ezen a tématerületen számos meta-analízis közlemény került publikálásra. A kardiológiai klinikai kutatások területén,

“Krónikus teljes koszorúér elzáródások perkután coronaria intervenciója” Regiszter, “Reperfúzió és arrythmiák” Regiszter, “QT variabilitás és kardiovaszkuláris autonóm neuropathia diabéteszben” Regiszter, illetve a “3D modellezéssel megvalósított coronaria rekonstrukció” Regiszter is indult.

### ***Vaszkuláris kutatások***

A vaszkuláris kutatások területén a PTE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinika Angiológiai Tanszéke Dr. Késmárky Gábor vezetésével, a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézettel együttműködésben a dimetil-triszulfid hemoreológiai paraméterekre (vörösvérsejt aggregációra és deformabilitásra) gyakorolt hatását vizsgálja *in vitro* modellben. A mérési protokoll kidolgozásra került: az anyag bomlékonysága és a mikrореológiai tulajdonságok gyors változása miatt a mérési sort rövid időn (kb. 2 órán) belül el kell végezni. A vérminták egészséges önkéntesektől és diabéteszes betegektől származnak. A vörösvérsejt deformabilitást illetően kis változás figyelhető meg, amely azonban a dimetil-triszulfid aktivitására csökkent, ezért a farmakológusok javaslatára a mérések megismétlése folyamatban van.

Az Angiológiai Tanszék megkezdte az antidiabetikumok alsó végtagi keringésre és hemoreológiai paraméterekre kifejtett hatását vizsgáló projektjének megvalósítását. Magas és igen magas érrendszeri rizikójú diabéteszes betegeknél a perifériás ér állapot felmérése az irányelvek alapján indokolt volna, ám ez a hazai gyakorlatban többnyire nem valósul meg. A szénhidrát anyagcsere javulásának perifériás keringési rendszerre gyakorolt jótékony hatásáról sem áll rendelkezésre kellő megerősítő információ. A vizsgálatba olyan diabéteszes betegek kerülnek bevonásra, akiknél az eddigi terápia ellenére 7% feletti HbA1C érték áll fenn. Új antidiabetikum (pl. SGLT-2 gátló, DPP4-gátlók, GLP-1 analóg) bevezetése előtt non-invazív alsó végtagi hemodinamikai vizsgálatokra kerül sor (boka-kar index, lábujj vérnyomásmérés, alsó végtagi duplex ultrahang) és hemoreológiai paramétereket határoznak meg. A terápia fenntartását követő három hónap elteltével ismételt méréseket végeznek. A beteg beválasztást korlátozza a beszűkült vesefunkció és a készítmények magas ára.

### ***Vázizom kutatások***

A PTE nemzetközi hálózatosodást segítő alapkutatási tevékenységei tekintetében dinamikus előrelépés történt az izom és a gasztroenterológia téma területén. A PTE ÁOK Biofizikai Intézet dr. Bugyi Beáta által vezetett munkacsoportja az SZTE ÁOK Biokémiai Intézetével (kutatás vezetője: Dr. Keller-Pintér Anikó) szoros

együttműködésben, komplementer módszertant alkalmazva vizsgálja az aktin és a mikrotubulus sejtvázhoz kapcsolódó mechanizmusokat a GLUT4 transzporterén keresztül glükózfelvételben. Ezen felül a Flightless-I fehérje aktin aktivitásait kutatják a sebgyógyulás folyamatában *in vitro* modellek alkalmazásával. Két doktoranduszt vontak be ezekbe a vizsgálatokba. A kutatási eredmények alapján több rangos nemzetközi publikáció született.

Az izom témakörben folyó alapkutatások területén Dr. Pétervári Erika munkacsoportja (PTE Transzlációs Medicina Intézet) Dr. Barbara Kofler (Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria) munkacsoportjával együttműködve vizsgálja a galanin peptid családba tartozó peptidek (galanin, GALP, alarin) centrális táplálékfelvétel-csökkentő és hipermetabolikus hatásait.

### Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról



*Nyitórendezvény, Pécs. 2017. szeptember 19.*





Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25. Sahin-Tóth Miklós professzor előadása.



Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25. Hegyi Péter professzor előadása.



Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25.

Dr. Erőss Bálint előadása



Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25.

Fiatal kutatók a konferencián



Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25. Julia Mayerle professzor asszony előadása.



Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencia, Vecsés. 2018. november 24-25. Jason Bruce professzor előadása.



*Dr. Cristian Gheorghe előadása a 2. Nemzetközi Transzlációs Medicina Konferencián 2019. november 30. Budapest.*



*Pécsi Nemzetközi Nyelőcsőrák Nap és Klinikai Irányelv Képzés 2019. november 14.*



*Pécsi Nemzetközi Nyelőcsőrák Nap és Klinikai Irányelv Képzés 2019. november. 15.*



*Dr. Hegyi Eszter, a PTE Transzlációs Molekuláris Genetikai Laboratórium vezetője, a bostoni Laboratóriumában.*



# Debreceni Egyetem

Projektért felelős vezető: Dr. Balla József

## **Alprojekt-1 (DE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése**

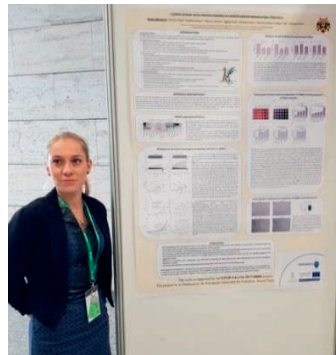
A projekt keretében végzett kutatási tevékenységek keretében fiatal kutatók és PhD hallgatók bevonására került sor, mely elősegítette a fiatal kutatóbázis nemzetközi beágyazódását és tapasztalatszerzését. A Belgyógyászati Intézet kutatási folyamataiba tehetséges hallgatók is bevonásra kerültek, mely kulcsfontosságú a folyamatos kutatói utánpótlás szempontjából. Rendszeres workshop-ok, beszámolók szervezése történt az intézetben, melyek lehetővé tették egy-egy módszertani-kutatási probléma megértését és megoldását, a kutatói gondolkodás fejlesztését, mely kulcsfontosságú feladatunk a kutató utánpótlás biztosítása során. A fiatal kutatók nemzetközi konferencián számoltak be kutatási eredményeikről (Cardiovascular Research Days 2018, Debrecen). A projekt keretein belül egy fő PhD védelme történt a Belgyógyászati Intézetben, két fő a fokozatszerzési eljárás, három fő pedig a fokozatszerzéshez szükséges második közlemény benyújtása előtt áll.

Dr. Uray Karen kutatócsoportjában Docsa Tibor egyetemi adjunktus, Sipos Ádám PhD hallgató és Gergely Bence MSc hallgató alkalmazásra került a projektből. Papp Mária munkacsoportjában 3 TDK hallgató került támogatásra: Villám Bence, Kováts Patrícia és Balogh Boglárka. A Lontay-munkacsoportban Horváth Dániel tudományos munkatárs és Tamás István tudományos segédmunkatárs dolgozik. Az alprojektben egy PhD disszertációt, egy habilitációt, egy egyetemi docensi kinevezést, 1 TDK pályamunkát és 2 szakdolgozat készítését segítette a pályázat.

A Debreceni Egyetem Élettani Intézetében 14 szenior kutató, illetve 8 fiatal kutató/PhD hallgató munkája lett finanszírozva. Minden egyes alprojekt munkához folyamatosan csatlakoznak orvos-, fogorvos- és gyógyszerész hallgatók, valamint az osztott képzésben oktatott képzési szakok hallgatói, akik megfelelő munka és eredmény elérését követően TDK előadások és pályamunkák szerzői lehetnek, illetve a jövőben csatlakozhatnak az Intézet munkájához PhD hallgatóként. Egy PhD hallgató 2020. novemberében védi meg doktori disszertációját.

Az Ioncsatorna Élettani Laboratóriumban (Dr. Panyi György munkacsoportja) a kutatómunkába egy fiatal kutatót vontunk be (Dr. Arnódi-Mészáros Beáta), aki a munkacsoportban jelentős szakmai támogatást kapott a pályázatba bevont senior kollégáktól. Munkája eredményeként 1 db Q1 cikk keletkezett, egy második Q1 cikke revízió alatt áll, míg egy harmadik munkáját elő lett készítve egy rangos lapban történő

publikációra. Szintén jelentős előrehaladás, hogy a munkába bevont PhD hallgató fokozat szerzési eljárása elindult (Dr. Zákány Florina). A PhD disszertációt három Q1-es közleményre alapozza, melyből két közlemény a pályázat támogatásával jött létre. Kutatói utánpótlást támogató programokba Vörös Orsolya PhD hallgatót vontuk be. A fiatal kollégák utánpótlás nevelése szempontjából igen jelentős események voltak a hazai és nemzetközi konferenciákon történő részvételek. Ezek közül kiemelendő a Debrecenben megrendezésre került Cardiovascular Research Days konferencia (2018. március 1-3.), ahol nemzetközi fórum előtt angol nyelven mutatott be posztert négy fiatal kolléga (Csóti Ágota, Dr. Arnódi-Mészáros Beáta (képen)), Vörös Orsolya és Dr. Zákány Florina). Külön megtiszteltetés volt, hogy a posztert bemutató hallgatók közül Dr. Zákány Florina a Carl Apstein Award kitüntetésben részesült. Külföldi nemzetközi konferencián poszterrel szerepelt Vörös Orsolya és Csóti Ágota. Dr. Szántó G. Tibor pedig a Translational interactive hands-on training and conference on epithelial ion transport konferencián tartott angol nyelvű előadást. A konferencia részvételek jelentősen hozzájárultak az utánpótlás képzéshez, külföldi és hazai kollégákkal történő szakmai kapcsolatfelvétel pedig előre mozdította a szakmai fejlődést. Ennek egyik legkomolyabb megnyilvánulása Csóti Ágota képzése Ausztráliában, Dr. Norton laboratóriumában (Monash University, 2 hónap, 2019).



Dr. Papp Zoltán munkacsoportjában a projekt keretein belül szintén lehetőséget biztosított hazai és nemzetközi konferencián, külföldi tanulmányutakon való részvételre a PhD hallgatók, fiatal kutatók számára, ahol bemutathatták eredményeiket, illetve megismerkedhettek a kutatási témában élen járó, tapasztalt kutatókkal, korszerű kutatási technikákkal. A kutatók szakmai konferenciákon vitatták meg eredményeiket a nemzetközi tudományos közösség tagjaival, együttműködések kezdeményeztek. Eredményeink megismertetése érdekében 2018-ban a Debreceni Egyetemen egy nemzetközi workshop került megszervezésre. A „Development of new therapies in cardiovascular medicine: translation from bench to bedside” című rendezvény célcsoportja a konzorcium kutatói és hallgatói voltak. Ennek érdekében EU, Kárpát-medencei és tengerentúli helyekről vendégkutatók meghívására került sor. Az előadásokon túl a nemzetközi kapcsolatépítés érdekében két, illetve sokoldalú találkozók zajlottak.

## **Alprojekt-2 (DE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés**

### **Dr. Balla József által irányított kutatások**

Nemzetközi együttműködésünk keretében a kutatási tevékenységek során számos hazai és nemzetközi kutatócsoporttal dolgoztunk/dolgozunk együtt, mely jelentősen hozzájárul a nemzetközi programokban, kezdeményezésekben történő sikeres részvételhez a felsőoktatási kutatási potenciál növelésével. Nemzetközi együttműködésünk eredményeképp nemzetközileg elismert kutatócsoportokkal létesítettünk szoros együttműködést, mint például Ann Smith (University of Missouri-Kansas City, USA), Magnus Gram és Bo Åkerström (Lund University, Svédország), Anupam Agarwal és Abolfazl Zarjou (Nephrology Research and Training Center, University of Alabama, USA), Roberta Torregrossa és Matthew Whiteman (College of Medicine and Health, University of Exeter Medical School, Exeter, UK), Vincenzo Sorrentino (University of Siena, Siena, Olaszország).

### **Dr. Uray Karen, Dr. Papp Mária és Dr. Lontay Beáta által irányított kutatások**

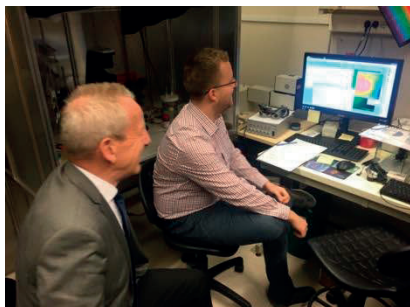
Antja Gohla (University of Wuerzburg, Wuerzburg, Germany), Maja Köhn (University of Freiburg, Freiburg, Germany), Jakob Nilssen (University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark) meghívott oktatóként és előadóként vettek részt a FEBS Europhosphatase 2019. Debreceni Egyetemen szervezett konferencián, ahol a fiatal kutatók és PhD hallgatók számára szervezett Open Forum szekcióinak vezetését is vállalták.

### **Dr. Panyi György által irányított kutatások**

A nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés területén szintén jelentős eredményeket megvalósítására került sor. Ezek közül kiemelendő, hogy a világ egyik legismertebb peptid kémikusa, Dr. Raymond Norton volt a Debreceni Egyetem vendége (jobb oldali kép), hallgatóinknak előadást és szemináriumot tartott, ill. közvetlen szakmai konzultációt nyújtott. Ezeken felül Norton professzor aktívan részt vett Csóti Ágota PhD hallgató képzésében.



Ezen a téren a másik nagy előre haladás, hogy konzorciális szerződést kötöttünk 12 partnerrel egy EU Marie Skłodowska-Curie Innovative Training Networks



programon belül (813834, pHioniC). Az így kialakult kutatói hálózat célja nemzetközi mércével mérve is magasszintű PhD képzés és kutatói együttműködés. Témája szorosan összefügg a jelen pályázattal, transzlációs megközelítésben vizsgálja az ionsatornák és a szöveti környezet szerepét a pancreas daganatok kialakulásában. A konzorcium vezetője, Dr. Albrecht Schwab (University of

Münster) szintén a Debreceni Egyetem vendége volt (bal oldali kép). A hallgatók és fiatal kollégák a szűken vett szakmai programokon felül részt vettek tudáshasznosítás képzésen is.

#### Dr. Csernoch László által irányított kutatások

A projekttel kapcsolatban hazai konferenciákon 14, nemzetközi konferenciákon szintén 14 munka került bemutatásra, elsősorban poszterek formájában, s ezek egy része ugyancsak kollaborációs partnerekkel végzett közös munka eredményeit prezentálta. A kutatási eredményekkel kapcsolatban született közlemények közül az almunkacsoportban 4 olyan cikk található, amely magyar, illetve 4 olyan publikáció, amely külföldi kollaborációs partnerek bevonásával valósult meg.

#### Dr. Papp Zoltán által irányított kutatások

A pályázat során kidolgoztunk egy olyan belső pályázati rendszert, amivel motivált hallgatóink önálló (saját maguk által tervezett) kutatásait támogattuk. Tanszékünk a teljes futamidő alatt 7 fő PhD hallgató, valamint 8 fő TDK hallgató kutatói tevékenységét támogatta ösztöndíj juttatással, valamint a szükséges infrastruktúra biztosításával. Az EFOP-3.6.2.-16-2017-00006 számú pályázat támogatásával Klinikai Fiziológiai Tanszék állománya az alábbi eszközökkel gazdagodott, melyeket azonnal alkalmaztunk a kutatásban és az oktatásban is:

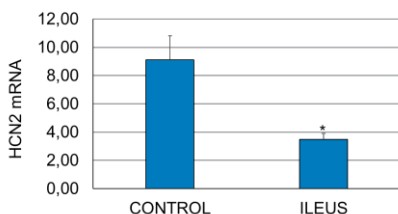
- DS-11FX spektrofotométer mikroküvetés és fluoreszcens mérési lehetőséggel
- Izoelektromos fókuszáló
- Izometriás érgyűrű kontraktilitás mérő rendszer
- Szabadgyök mennyiség meghatározására képes eszköz
- Intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció mérő eszköz
- 5 db PC8 Dell Optiplex 3060 számítógép

## Alprojekt-3 (DE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenységek

### Gasztroenterológia

*Dr. Uray Karen, Dr. Papp Mária és Dr. Lontay Beáta által irányított kutatások*

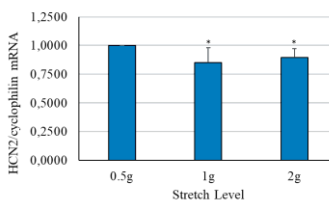
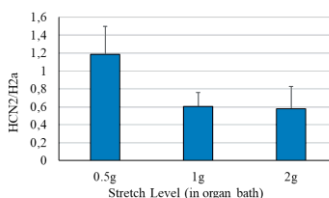
A műtéten átesett betegek kb. 30%-ánál jelentkeznek étkezési és emésztési problémák. Az így kialakult tünetek, csökkentik a betegek komfortérzetét, komplikációkat okozhatnak, növelve a kórházban eltöltött időt és a beteg gyógyítására fordított összeget. Ezeket az emésztési problémákat, amelyeket a belek kontrakciójának és átjárhatóságának a csökkenése okoz ileusnak nevezünk. A mechanoszenzitív ioncsatornák kulcs szerepet töltenek be a bél stimuláció hatására bekövetkező kontrakciójának és átjárhatóságának változásában. Az EFOP pályázat egyik fontos célkitűzése, a mechanoszenzitív csatornák szerepének vizsgálata az ileus kezelésében. A vizsgálatok során összehasonlítottuk a különböző gének expressziós szintjét a vékonybél körülölelő simaizomban kontroll szövetben és



A HCN2 gén expressziójának a szintje, kontroll és ileus indukál patkányok vékonybél mintáinak simaizmából mérve. Az ileus-t ödéma segítségével indukáltuk, amelyben a felső mesenterialis vénát részben elköttöttük. Hat óra elteltével az ileusból gyűjtöttük be a simaizom mintákat, amelyeken a microarray vizsgálatokat végeztük. (n=4 per group, \*, p<0.05 T-teszt)

körülményeket egerekből izolált vékonybél mintákon. Az eredményekből egyértelműen látszik (bal oldali ábra), hogy az ileus kialakulása után a HCN2 expressziója mRNS szinten csökkent a bélben található simaizomban. A HCN csatornák gátlása egy specifikus inhibitorral (ZD7288) jelentősen csökkentette az agonisták által indukált bélkontrakciót. Méréseinket elvégeztük különböző kalciumion koncentráció jelenlétében, amivel a simaizom stimulálása változik, és tetrodotoxin jelenlétében, amivel a vékonybélben megtalálható idegsejteket

ileusban. Az eredmények azt mutatták, hogy a Hiperpolarizáció Aktivált Ciklikus Nukleotid-függő Kálium és Nátrium ion csatorna 2 (HCN2) expressziós szintje csökkent ileus-os modellekben. Így megvizsgáltuk a HCN gátlásának hatását a vékonybél kontrakciójára. A kísérletek során modelleztük az ileus során kialakuló mechanikus nyújtást és gyulladásos



A HCN2 expressziójának a változása. A felső panel mRNS szinten, míg az alsó panel fehérje szinten mutatja az expresszió változását, a bél 2 órás nyújtását követően.

blokkoltuk. A kísérletek során egy HCN2 szelektív inhibitor is használtunk a zatebradine-t, amely a ZD7288-al azonos eredményeket adott. Amikor kísérleteinkben megnöveltük a vékonybél megnyújtásához használt súly méretét, a HCN gátlószerek hatékonysága csökkent, továbbá az erősebb nyújtás hatására csökkent a HCN expressziós szintje (jobb oldali kép) mRNS és fehérje szinten is. A vékonybél mintákat aktivált makrofágok médiumával, illetve CXCL1-el előkezelve nem kaptunk változást a HCN inhibitorokkal kezelt bél kontrakciójában. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a HCN2 gátlása csökkenti az agonisták által indukált bélkontrakciót. A megnövelt nyújtó hatás, amellyel az ileus-t modelleztük, csökkenti HCN2 inhibitor hatását, vagyis a HCN2 aktivitását az ileus kialakulása során jelenlévő fokozott nyújtás szabályozza. Így a bél falának megnövekedett megnyúlása csökkenti a HCN2 expresszióját a simaizomban. Gyulladásos mediátorok, amelyek mennyisége szintén megnövekedik az ileus kialakulása során, nem okoznak változást a HCN2 expressziós szintjében.

A HCN2 mellett a  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPáz}$  enzim (NKA) simaizom sejtekben való szabályzásának mechanizmusa is vizsgálataink tárgya volt. Az NKA a membránpotenciál fenntartásáért felelős, ezáltal alapvető szerepe van a simaizom összehúzódás szabályozásában. Az NKA foszforilációja annak aktivitását és plazmamembrán lokalizáltságát is gátolja. Biokémiai és proteomikai eredményeink alapján a NKA kölcsönhatásba lép a miozin foszfatáz (MP) MYPT szabályozó alegységével, ami annak szabályozó alegységének defoszforilációjáért felelős. Ileum szövetminták MP gátlása a NKA foszforiláltsági szintjét szabályozta.

A MP szerepét a szövetek sebzáródási folyamataiban is leírtuk. A MP a MAPK jelátviteli pályára hatva a sebzáródásért felelős transzglutamináz-1 génexpresszióját szabályozza (Horváth *et al.*, BBA 2018). A MP emellett más nem-izom szubsztrátok defoszforilációjára is hat, így a génexpressziót szabályozó protein arginin metiltranszferáz 5 gátlását is okozza a sejtmagban, ami a hiszton 2A és 4 szimmetrikus dimetilációjának gátlását és a retinoblasztoma tumorszuppresszor expressziójának gátlásához vezet. Kimutattuk, hogy ez a jelátviteli pálya számos daganattípusban jelen van (Sipos *et al.*, Sci Rep 2017). A MP sejtmagi szabályozása a protein foszfatáz 2C szabályozása által valósul meg a MYPT alegység Thr696 gátló foszforilációs helyén keresztül.

Mindemellett célul tűztük ki, hogy nagyszámú, prospektíven követett különféle krónikus májbetegségben szenvedő betegcsoportokat (májcirrózisos, autoimmun májbeteg, primer sclerotizáló cholangitis [PSC]) vizsgálva a klinikai gyakorlat számára klinikai, szerológiai és genetikai módszerek alkalmazásával, olyan új markereket azonosítsunk, melyek megbízhatóan jelzik a CAID (cirrózis-asszociált immundiszfunkció) szindróma jelenlétét, mely a betegség progressziója szempontjából meghatározó. A CAID szindrómában a patológiás bakteriális

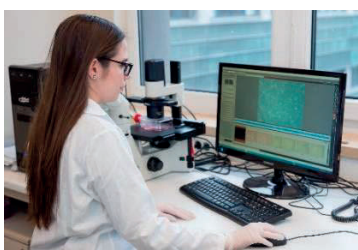
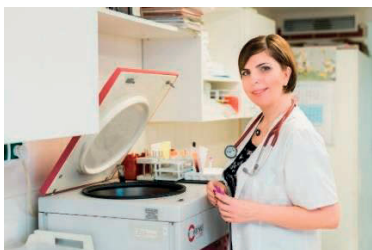
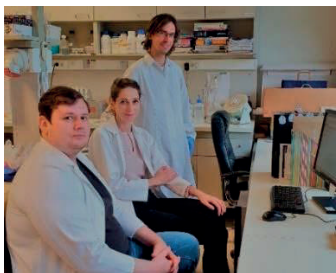
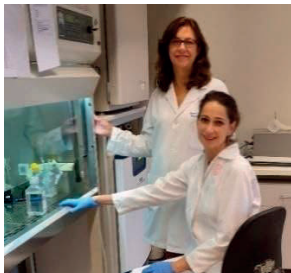
transzlokációnak (BT) kitüntetett szerepe van, melynek háttérében a strukturális és immunológiai bélbarrier működészavara, a megváltozott bélflóra és a bakteriális túlnövekedés állnak. A BT hatékony azonosítása előre jelezheti a várható súlyosabb klinikai lefolyást és a szövődményes betegségforma kialakulását.

Emellett májcirrózisos betegek és kontrollok szérumát vizsgáltuk a bél funkcionális és strukturális károsodásának, a mukózális immunitás aktivációjának, a BT, valamint veszély jelek hatására felszabaduló molekulák jelenlétének kimutatására és a szintjük meghatározására. Kimutattuk, hogy az általunk vizsgált szerológiai markerek koncentrációja emelkedett értéket mutat a cirrózisos betegcsoportban a kontrollhoz képest. Az IgA-AAA jelenléte összefüggést mutatott az alkoholos etiológiával, valamint a dekompenzált betegségstádiumot jelző laboratóriumi és klinikai markerekkel. A BT szerológiai markerei gyakrabban voltak emelkedettek, ha az IgA-AAA jelen volt. A bevásárláskor kompenzált betegségstádiumban lévő májcirrózisos betegek esetén a dekompenzáció kialakulásának és a halálozás kockázata is gyakoribb volt az IgA-AAA jelenléte esetén. Az IgA-AAA emelkedett szérumkoncentrációja májcirrózisban előrejelzi a betegség kedvezőtlen lefolyását és a betegség progresszió új szerológiai markerének tekinthető. Emellett az Ig kappa szabad könnyű lánc megnövekedett szérumkoncentrációja összefüggésben van a krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség (ACLF) szindróma kialakulásával.

Egy további kutatási projektben a monociták/makrofágok és a neutrofilek aktiválódása során felszabaduló szolubilis triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) szerepét vizsgáltuk májcirrhosisban Dr. Antal-Szalmás Péter (Laboratóriumi Medicina Intézet) közreműködésével. A sTREM-1 szintek szignifikánsan magasabbnak mutatkoztak súlyosabb májbetegségben, bakteriális infekció előfordulásakor és ACLF szindrómában szenvedő betegekben. Multivariációs modellben, a magas sTREM-1 szint (>660 pg/ml) a 90 napos halálozás független előrejelzőjének bizonyult bakteriális infekcióban szenvedő akut dekompenzált májbeteggekben. A CAID szerzett hajlamosító tényezői mind a kezdeti, mind pedig az előrehaladott betegségstádiumok esetén nagyobb jelentőséggel bírnak a bakteriális fertőzések kialakulásában, mint a veseszületett immunválasz első vonalbeli fogékonyságot reprezentáló celluláris mintázatfelismerő receptor (PRR) gének funkcionális polimorfizmusai. Kimutattuk májcirrózisban, hogy a protonpumpa gátlók (PPI) tartós szedése kedvezőtlenül befolyásolja a betegség lefolyását, melyet a fokozódott patológiás BT eredményez (Eur J Gast Hep, 2020). Primér szklerotizáló kolangitiszben elsőként számoltunk be arról, hogy az IgA izotípusú target specifikus pancreas elleni antitestek (PAB) jelenléte gyakoribb és összefüggést mutat a progresszív betegség lefolyással (Sci Rep, 2018 és Auto Immun Highlights, 2020).



## Életképek





## ***Kardiológia, vaszkuláris és vázizom kutatások***

### *Dr. Csernoch László által irányított kutatások*

#### *A) Kardiológiai kutatások: A késői Na<sup>+</sup>-áram vizsgálata kutya, tengerimalac és humán kamrai szívizomban*

A késői Na<sup>+</sup>-áram nagyságát és kinetikáját először kutya kamrai szívizomból izolált szívizomsejteken vizsgáltuk konvencionális mikroelektroda technika, hagyományos whole cell voltage clamp és akciós potenciál clamp technikák alkalmazásával. A késői Na<sup>+</sup>-áram profilját két különböző szelektív gátlószerral, tetrodotoxin illetve GS-967 segítségével határoztuk meg farmakológiai kivonást végezve. Megállapítottuk, hogy a tetrodotoxin majdnem teljesen gátolja a késői Na<sup>+</sup>-áramot. Hasonló következtetésre jutottunk GS-967-tel is. A késői Na<sup>+</sup>-áram profilját fenti gátlószerek segítségével vizsgálva megállapítottuk, hogy a késői Na<sup>+</sup>-áram nagysága kutya kamrai sejteken jelentős egyéni variabilitást mutat, nagysága néhány tíz pA-tól akár a száz pA-es tartományig terjedhet.

Akciós potenciál clamp körülmények között a késői Na<sup>+</sup>-áram alakja "decrecendo" jellegű volt, vagyis az áram amplitúdója az akciós potenciál alatt folyamatosan csökkent – szemben a tengerimalac hasonló sejtjein tapasztalt "crescendo" profillal. A vizsgálatainkból arra következtetünk, hogy a decrecendo jelleg a kutya késői Na<sup>+</sup>-áramának intrinsic tulajdonsága és nem az akciós potenciál-morfológia következménye.

A humán késői Na<sup>+</sup>-áram lefutása akciós potenciál voltage clamp körülmények között nem különbözött a kutyából elvezetett késői nátrium áramétól: mindkettő egyaránt csökkenő amplitúdót mutatott az akciós potenciál alatt – szemben a tengerimalac "crescendo" jellegű késői nátrium áramával.

Konvencionális voltage clamp körülmények között a tetrodotoxin-érzékeny áram alakja mindhárom fajban (kutyában, emberben és tengerimalacban) hasonló volt. Tengerimalacban a csatornák inaktivációja két és félszer lassúbb volt, mind a kutya, ill. humán sejteken. Ugyanakkor az áram csúcsamplitúdójában nem volt szignifikáns különbség a három species között. A tengerimalacban talált "crescendo" áramprofil ezért az áram lassúbb inaktivációjával magyarázzuk.

Minhárom fajban a tetrodotoxin reverz frekvencia-függő módon rövidítette az akciós potenciálok időtartamát. 1 Hz ingerlőfrekvenciánál összehasonlítva a legnagyobb rövidülést humán szöveteken ( $67 \pm 16$  ms), majd kutyán ( $21 \pm 4$  ms) és a legkisebbet tengerimalacban mértük ( $11 \pm 3$  ms). Sem a nyugalmi potenciál nagysága, sem az akciós potenciál amplitúdója nem változott szignifikánsan tetrodotoxin hatására, de a depolarizáció maximális sebességét  $2 \mu\text{M}$  tetrodotoxin szignifikánsan

csökkentette. Az eltérő rövidítő hatásokat az egyes fajok szívizomsejtjeire jellemző repolarizációs rezerv különbségeivel magyarázzuk. Megállapítottuk, hogy a tengeri viaszrózsa toxinja (ATX-II) által indukált áram (amelyet a késői  $\text{Na}^+$ -áram modellezésére használnak) kutya és tengerimalac sejtekben egyaránt “crescendo” kinetikát mutat. Ebből következik, hogy kutyában (és valószínűleg humán sejteken is) az ATX-II által indukált áram különbözik a késői nátrium áramtól. Ennek fényében nem javasoljuk az ATX-II használatát a humán késői  $\text{Na}^+$ -áram modellezésére.

Az eddigi vizsgálatainkat összegezve kijelenthetjük, hogy a humán késői  $\text{Na}^+$ -áram modellezésére eddigi ismereteink szerint kizárólag a kutya kamrai szívizomsejtekről elvezethető késői  $\text{Na}^+$ -áram alkalmas.

### *B) Vázizom kutatások*

A szarkopénia az előregedő társadalom életminőségét negatívan befolyásoló betegség. Az öregedéssel járó izomtömeg- és izomerővesztés a fizikai teljesítményt és napi aktivitást erősen korlátozza. Az izmokat érintő elváltozások esélye nőhet az esszenciális nyomelem szelén hiányában, ami fáradékonyságot, izomfájdalmat és gyengeséget is okozhat. Hasonlóan negatív következménnyel jár már fiatal és öregkorban is egyes izom-specifikus fehérjék hiánya.

Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy az önkéntes futás mértéke, a maximális rángás és tetanuszos erő, valamint az izmok belső raktáraiból felszabadult kalcium mennyisége csökkent, míg a reaktív oxigén gyökök termelése megnőtt az idős egerek esetén a fiatal állatokhoz képest. Ezek a változások a kalciumcsatorna és a szelén tartalmú fehérjék csökkenésével és a megmaradt csatorna fehérjék szétesésének növekedésével jártak együtt. Mind az egész életen át tartó edzés, mind a rövid távú szelén étrend kiegészítés képes volt kompenzálni az izomerő és az izom belső raktáraiból történő kalcium felszabadulás csökkenését idős egerekben. Viszont a fiatal korban megjelenő izomtömeg növekedés erre nem volt képes, amit genetikailag módosított megnövekedett izomtömeggel rendelkező egereken végzett kísérleteink bizonyítottak. A szelén étrend-kiegészítés jelentősen növelte a szelén tartalmú fehérjék szintjét az öreg egerekben és megmutattuk, hogy izmokra kifejtett jótékony hatása kalcium-független útvonalon keresztül valósul meg.

Megvizsgáltuk az izom belső kalcium-raktárainak normális elhelyezkedéséért felelős egyik fehérjét nélkülöző egerekben a kalcium-raktárak tartalmát. A kalcium-tartalom jelentősen lecsökkent a fiatal és idős genetikailag módosított állatokban, míg a járulékos strukturális módosulások csak az öregedés során jelentek meg. A vizsgált fehérje hiánya a vázizom rostok kalcium-homeosztázisát is negatívan befolyásolja. A permeabilizált izomrostokon mért spontán kalcium-felszabadulási események

elemzése azt mutatta, hogy ezek gyakorisága jelentősen alacsonyabb volt a fiatal és az idős genetikailag módosított egerek esetében is a kontroll állatokhoz viszonyítva.

Összefoglalásképpen elmondhatjuk, hogy a mérsékelt edzésnek és a szelén étrend kiegészítésnek jótékony hatása van az izmok belső raktáraiból történő kalcium-felszabadulásra és az izomerőre öregkorban, míg a fiatal korban megnövekedett izomtömeg nem javítja a fizikai teljesítményt az öregedés során egerekben. Továbbá az általunk vizsgált genetikai módosítás nem csak az izomrostok belső kalcium-raktárainak struktúrájára van negatív hatással, hanem annak csökkent kalcium-raktározási kapacitását is okozza, ami végül kisebb kalcium-felszabadulást és következményesen gyengébb izomerőt eredményez. Eredményeink az időskori szarkopénia és genetikai eredetű izombetegségek új terápiás lehetőségei előtt nyithatnak utat. A genetikailag módosított egereken végzett munkánkat egy, a pályázatnak köszönhetően kialakult olasz kollaboráció keretében végeztük.

### *C) Érrendszeri kutatások: a Piezo csatornák vaszkuláris simaizomsejtek kalcifikációjában betöltött szerepének vizsgálata*

A 2010-ben azonosított Piezo csatornák olyan evolúciósan erősen konzervált, óriás transzmembrán fehérjék, amelyek mechanoszenzitív, nem szelektív kationcsatornaként funkcionálnak és jelenlétük számos élettani folyamatban kulcsfontosságú jelentőséggel bír. Korábbi tanulmányokban kimutatták, hogy a Piezo1 csatorna a tüdő, a húgyhólyag, a bőr, de elsősorban a kardiovaszkuláris rendszert alkotó sejteken van jelen, míg a Piezo2 csatornák többnyire a szenzoros neuronok membránjában találhatóak meg. Ismert továbbá, hogy a Piezo1 csatorna esszenciális szerepet játszik az érrendszer korai kialakulásában. Arra vonatkozólag azonban meglehetősen hiányos a tudományos adatközlés, hogy ezek a csatornák felnőtt korban jelen vannak-e és ha igen, akkor milyen szereppel bírnak az érfal simaizomsejtjeinek működését illetően, illetve mechanoszenzitív kationcsatornaként milyen szerepet játszanak az ateroszklerózis patogenezisében, különösen a kalcifikáció kialakulásában.

A projekt első lépéseként érsebészeti beavatkozás során nyert mintákon kimutattuk, hogy a Piezo1 csatorna elsősorban az artéria *carotis internában* fejeződik ki magasabb szinten, míg az alacsonyabb érfali nyíróerőnek kitett *femoralis* artériákban alacsonyabb expressziós mintázatot mutat. Ezt követően, az artériák *tunica media* rétegét alkotó simaizom *in vitro* modelljének tekinthető HAOSMC sejteken megállapítottuk, hogy a Piezo1 csatornák expressziója mRNS és fehérje szinten egyaránt megemelkedik kalcifikáció hatására. Fluoreszcens mikroszkópia segítségével, a HASOMC sejteken kimutattuk, hogy a Piezo1 csatorna hypoosmotikus stresszel vagy a Yoda1 farmakológiai agonistával kiváltott aktivációja a kalcifikáltatott

sejteken szignifikánsan magasabb  $\text{Ca}^{2+}$ -tranzienseket eredményezett a nem kalcifikáltatott kontroll sejtekhez képest. Miután a projekt keretén belül lehetőségünk nyílt kidolgozni és optimalizálni egy sejtizolációs protokollt, így egér hasi aorta szakaszának kimetszése és annak enzimatisz emésztése útján nyert primer vaszkuláris simaizomsejteken ugyancsak igazoltuk a Piezo1 csatorna jelenlétét. Továbbá a csatorna aktivációjával kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$ -tranziensek detektálásával igazoltuk, hogy a csatorna funkcionálisan aktív formában van jelen a sejtek membránjában.

**A projekt keretén belül beszerzett eszközök:** Digidata 1550B0 analóg-digitális jelátalakító (MDX-DIGIDATA1550B0), mérőprogram csere PClamp 6-ról 10-re (MDX-PCLAMP10UPGP6)

A kardiológiai kutatások keretén belül végzett munkát segítették, és a további elektrofiziológiai kísérletekben is alapvető jelentőségű műszerként szolgál. A vázizom kutatási rész megvalósításához 20 db, speciális genetikailag módosított egeret vásároltunk. Ezen projektmunka, illetve a másik két kutatási ág molekuláris biológiai részének megvalósításához került beszerzésre egy inkubátoros rázógép (IKA KS3000 i), mely a későbbiekben is jelentősen kihasznált eszközként működik a munkacsoportok kísérleteiben a megfelelő hőmérsékleten történő inkubációk, emésztések és plazmidok bakteriális felszaporítása során.

### Életrépek



Munkacsoport megbeszélés.



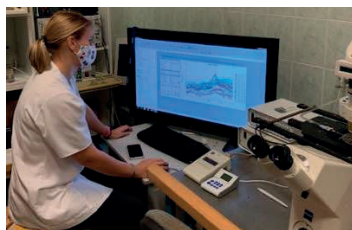
Fluoreszcensen jelölt sejttenyészetek vizsgálata AiryScan konfokális mikroszkóppal.



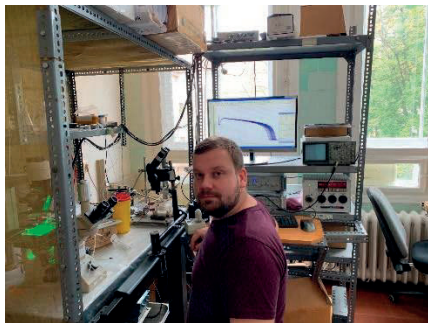
European Muscle Conference, Canterbury, Nagy-Britannia, 2019. Szeptember.



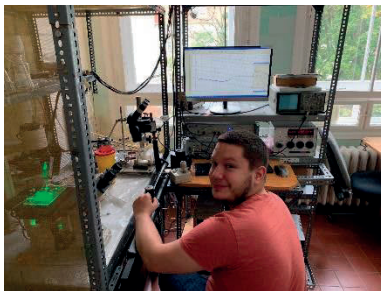
Szívizom kutató munkacsoport.



Fluoreszcens kalciummérés tenyésztett HAOSMC sejteken.



Akciós potenciálok regisztrálása, PClamp 10-es program használata.



Szívizomsejtek elektrofiziológiai vizsgálata Digidata1550B0 digitális jelátalakító segítségével.

## **Kardiológia**

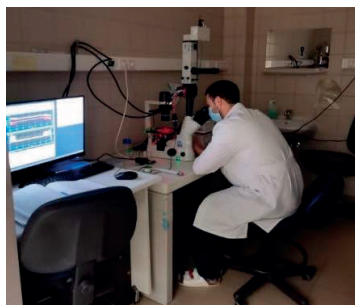
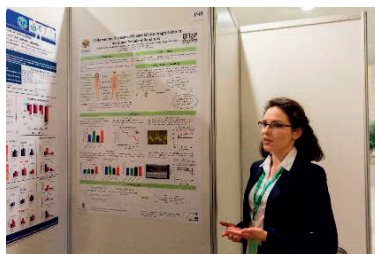
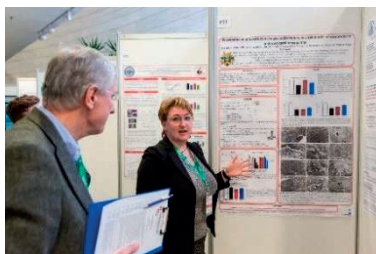
### Dr. Papp Zoltán által irányított kutatások

A pályázat segítségével megvalósított konkrét kutatási tevékenységeinket tekintve a Kardiológiai Intézetben belül olyan diagnosztikus módszerek beállítását kezdtük meg, melyek alkalmasak lehetnek a különböző gyógyszerekkel történő gyógykezelés hatékonyságának mérésére kardiovaszkuláris betegekben. Pozitív eredményeink vannak az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátló, a X-es véralvadási faktor gátló és direkt thrombin gátló gyógyszereket tekintve. A bevezetett új technológiák klinikai translációja folyamatban van, humán klinikai etikai engedély birtokában már betegek bevonására is sor került. Sikert ért el egy új diagnosztikus módszert bevezetnünk a szarkoidózis diagnosztikájára, amelynek alapja a beteg véréből végzett enzimaktivitás mérések (ACE és kitotirozidáz enzimek). A diagnosztikus módszer segítségével jelentősen javult a szarkoidózisban szenvedő betegek műtéti mintavétel nélküli diagnózisának hatékonysága. Alapkutatási tekintetben a legújabb, kardiológiai klinikai ellátásba bevezetett gyógyszerek közül kiterjedten foglalkoztunk az omecantiv mecarbil (OM) hatóanyaggal. Az OM-et a szisztolés szívelégtelenség kezelésére alkalmas gyógyszerként fejlesztik. Az eszközbeszerzéseink lehetőséget teremtettek arra, hogy az OM izolált bal kamrai szívműködésének kontraktilitására gyakorolt hatásait megmérhessük. Eredményeink szerint az OM a szívműködés zavarát okozza, továbbá a kontrakció időtartamát rendkívüli mértékben megnyújtja. Alapkutatási tekintetben vizsgáltuk azt, hogy a keringésbe kerülő ACE mely szervből származhat. Ennek érdekében mellkassebészeti mintákat is feldolgoztunk, melyek segítségével arra a következtetésre jutottunk, hogy az emberi tüdő kisebb mértékben járul hozzá a keringő ACE-hoz. Emberben a keringő ACE dominálón valamilyen más szövetből származik. A megvalósítási periódus végére érkezett meg és teljesedett ki a SARS-CoV-2 pandémia. A társadalom jogos elvárására válaszolva a korábban kifejlesztett kísérleti rendszereinket a SARS-CoV-2 sejtes receptorának, az ACE2 enzimnek vizsgálatára alkalmaztuk. A kísérleteink során vizsgáltuk a keringő ACE2 összefüggését a szöveti ACE2-vel humán tüdő és szív mintákon. Eredményeink szerint a humán szívben magas mennyiségű ACE2 expresszió van jelen, mely jóval alacsonyabb a humán tüdőben. Ez annak tükrében érdekes, hogy a SARS-CoV-2 legféltretehetőbb tünete a tüdőgyulladás tartja. Eredményeink felvetik további szervek fertőzésének szerepét a vírus magas halálozásában. Ezek miatt a rendelkezésre álló kardiovaszkuláris betegektől vett minták ACE2 aktivitását is tanulmányoztuk. Az eredmények szerint a keringő ACE2 szint megemelkedik az aorta sztenózisban betegségben. Ez összefüggést mutathat ezen betegek SARS-CoV-2 általi veszélyeztetettségével.



Összességében a projekt érdemben hozzájárult nemcsak műszerezettségünk és személyi feltételeink javításához, de motiválta a fiatal kutatói utánpótlás nevelését. A beszerzett műszerekkel a kutatóink világszínvonalú kutatások technikai feltételeit teremtették meg. A kapott eredmények kapcsán bizakodással fordulunk a megszülető publikációk fogadtatása felé.

## Életképek



## Vaszkuláris kutatások

### Dr. Balla József által irányított kutatások

Az érlelmeszesedéses plakkok progressziója során gyakran megfigyelhető a bevérzés és a vörösvértestek azt követő lízise, amely fontos kóroki tényező az ateroszklerózis patológiájában. Munkánk során bizonyítottuk, hogy a bevérzett plakkokban jelentős mennyiségű szabad hem mutatható ki a bevérzés nélküli aterómákhoz és egészséges kontrollhoz képest, amely endoplazmatikus retikulum (ER) stresszhez vezet a sejtekben. Mivel bevérzés (hemoglobin, hem) hatására *in vivo* humán érbetegségből származó mintákban ER stressz mutatható ki, ezért *in vitro* humán aorta simaizomsejteken (SMC) vizsgáltuk a hem hatására bekövetkező ER stressz lefutását. Eredményeink azt mutatták, hogy a bevérzés környezetében *in vivo* kimutatható hem mennyiségének töredékével jelentős mértékű ER stressz mutatható ki. A jelenséget hem-indukált ER (HIER) stressznek neveztük el. Kimutattuk, hogy a hem dózis- és időfüggő módon indukál ER stresszt SMC kultúrákban és szabadgyök képződést indukál. Kísérleteink második fázisában a potenciális terápiás lehetőségek kutatását tűztük ki célul, melyek során ismert hemkötő fehérjék (hemopexin és alfa-1-mikroglobulin), valamint a gyökfogó N-acetil-cisztein (NAC) hatását vizsgáltuk, melyek potenciális gyógyszer kandidánsok lehetnek a hem stressz kezelésében. A hemopexint Egyesült Államok-beli (Dr. Ann Smith, University of Missouri-Kansas City), míg a rekombináns alfa-1-mikroglobulint svéd (Magnus Gram, Bo Åkerström, Lund University, Svédország) partnereinktől kaptuk. Bizonyítottuk, hogy a HIER stressz hemkötő fehérjékkel teljesen, míg NAC gyökfogóval részlegesen gátolható, mely a terápiás jelentőséggel bír a bevérzéssel járó kórképek esetén.

Az oszteoklasztok csontreszorpcióra specializált makrofág-eredetű sejtek. A kalcifikált ateroszklerotikus plakkokban található oszteoklaszt-szerű sejtek funkcióvesztése a vaszkuláris kalcifikáció folyamatának kedvez. Az ateroszklerotikus plakkok bevérzése gyakori jelenség, melynek során a sejtekből kiszabaduló hemoglobin a plakkok oxidatív környezetében ferril-hemoglobinná (FHb) oxidálódik. Munkánk során megvizsgáltuk, hogy az oxidált hemoglobin befolyásolja-e az oszteoklasztok kialakulását és csontreszorpciós aktivitását a kalcifikált ateroszklerotikus plakkokban. Vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy a FHb csökkenti a RANKL-indukálta csontreszorpciós aktivitást és gátolja az oszteoklaszt-specifikus gének expresszióját. Ezek a hatások hem-oxigenáz 1 (HO-1) enzimtől függetlenek, melyet *HO-1* gén knock-out RAW264.7 sejteken és egerekben is kimutattunk. Munkánk során bizonyítottuk, hogy a FHb verseng a RANK-kal a RANKL-kötésért, ami egy lehetséges mechanizmust mutat, melynek révén a FHb akadályozza az oszteoklaszt differenciációt. Ezen túlmenően kimutattuk, hogy a FHb gátolja a RANK-



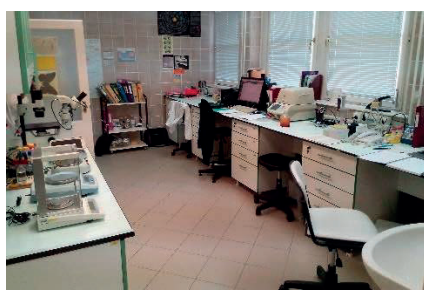
ból kiinduló oszteoklasztogenezis felhalmozódás környékén lokalizálódnak, míg a FHB felhalmozódást mutató bevértzett léziók esetében a kalcium akkumuláció ellenére is ezen sejtek száma lecsökkent. Kóros human carotis artériák esetében igazoltuk, hogy az oszteoklaszt-szerű sejtek nagy mennyiségben vannak jelen a kalcifikált plakkokban és a kalcium egy olyan különleges mikrokörnyezetet teremt, melyben az oszteoklaszt-szerű sejt mediálta kalcium depozíció eltávolítása akadályozott, ezáltal gátolt az érrendszer endogén kalcium reszorpciós képessége.

Szívbillentyűk meszesedésére vizsgáló kutatásaink során megállapítottuk, hogy a kénhidrogén ( $H_2S$ ) gátolja azok mineralizációját, valamint, hogy a meszesedéssel járó aorta billentyűk betegségének kialakulásában (CAVD) fontos szerepe van a gyulladásnak. Kutatásunk célja volt, hogy megvizsgáljuk és azonosítsuk a  $H_2S$  pontos hatásait a CAVD patogenezisében, és mint lehetséges terápiás szert mutassuk be. Humán szívbillentyű szövetmintákból nyert metszetek immunohisztokémiai vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a meszes szövetmintákban szignifikánsan magasabb CSE (endogén  $H_2S$  termelő enzim) expresszió detektálható, mint azokban a billentyűkben, melyekben kalcifikáció nem volt megfigyelhető. A  $H_2S$  mineralizációt, illetve gyulladást gátló hatását  $H_2S$  felszabadító donor molekula adásával (AP72) igazoltuk. Az AP72 által kifejtett gyulladásgátló hatás az NF- $\kappa$ B transzkripció faktor sejtmagba történő transzlokációjának gátlása révén valósult meg szívbillentyű intersticiális sejtekben (VIC), amelyet csökkent citokin válasz követett. Az endogén  $H_2S$  termelő enzimek génjeinek csendesítésekor fokozottabb mineralizációt és magasabb citokin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) expressziót figyeltünk meg, igazolva ezzel a  $H_2S$  meszesedésben betöltött szerepét. Fontos, hogy az NF- $\kappa$ B transzkripció faktor génjének csendesítése vagy farmakológiai gátlása a Runx2 transzkripció faktor sejtmagi transzlokációjának gátlását, ez által pedig a VIC sejtek mineralizációjának gátlását eredményezte. *In vivo* körülmények között alkalmazva az AP72-t ApoE-/- egerekben, azok szívbillentyűiben szintén a gyulladásos folyamatok és a mineralizáció gátlását igazoltuk, míg a magas zsír-és koleszterin tartalmú étrenden tartott egerek szívbillentyű sejtjeinek magjában a Runx2 és az NF- $\kappa$ B transzkripció faktorok megnövekedett szintjét detektáltuk. Kutatócsoportunk az első, mely igazolta, hogy a Runx2  $H_2S$  útján történő szabályozása NF- $\kappa$ B transzkripció faktoron keresztül történik, igazolva ezzel a gyulladás és a mineralizáció kapcsolatát szívbillentyűkben. Ezek az eredmények újszerű terápiás megközelítést nyújthatnak a közeljövőben a szívbillentyűk meszesedésének (CAVD) megelőzésében.

Eredményeink jelentősen hozzájárulnak az érbetegségek patológiájának megértéséhez. Azonosítottunk egy új sejt/szövetkárosodási mechanizmust, a bevértzés hatására kialakuló ER stresszt, mely terápiás célpont lehet érbetegségekben. Kimutattuk továbbá, hogy a bevértzés jelentősen csökkenti az érfal

azon természetes képességét, hogy oszteoklaszt-szerű sejtek segítségével csökkentse az erek meszesedését, így az oszteoklaszt-aktivitás megőrzése potenciális terápiás lehetőséggel bír. Bizonyítottuk a  $H_2S$ , illetve a  $H_2S$  donormolekula védő hatását a szívbillentyű meszesedési folyamatában. Összefoglalva, a projekt keretében potenciális terápiás célpontokat azonosítottunk, illetve terápiás lehetőséget tártunk fel, melyek jelentősen hozzájárulnak a szív-érrendszeri megbetegedések következő halálozás és krónikus szívelégtelenség csökkentéséhez.

### Életképek



Dr. Panyi György által irányított kutatások

Munkacsoportunk az érrendszeri kutatásokba kapcsolódott be. Konkrét kutatási programunk az ioncsatornák szerepét vizsgálja a mesenchymális őssejtek (MSC-k) differenciálódásában. Az MSCk alkalmazása rendkívüli lehetőségeket nyújt a regeneratív medicinában, mert e sejtek multipotensek, és képesek a sérült, gyulladt szövetekhez vándorolni. A sejt/szövet pótláson felül szolubilis mediátorok, növekedési faktorkok felszabadításával, és az immunrendszer modulációjával is elősegítik a regenerációt. Az MSCk számos szövetből kinyerhetők, de a placenta-eredetű MSC-k (pMSC-k) alkalmazása az egyik legígéretesebb (nagy mennyiségben invazív eljárás nélkül kinyerhetők, számos előnyösebb tulajdonságuk van, mint a felnőtt szöveti őssejteknek, pl. képesek endotheliális irányú differenciációra is stb.). Szemben a



csontvelői-eredetű MSC-keknél nincs irodalmi adat a placentából származó MSC-k ioncsatorna mintázatáról, holott az ioncsatornák számos sejtfunkcióban (pl. migráció) fontos szerepet tölthetnek be. A kutatási program végrehajtása során olyan multikolor áramlási citometriás eljárást dolgoztunk ki, amely 4 marker egyidejű vizsgálata alapján választja el a cMSC-keket a placentában található más sejtípusoktól (adherens syncytiotrophoblast, fibroblast, endothel és simaizom sejtek). A CD73, CD90, CD45 és CD34 markerkombinációval válogatott sejteken ellenőriztük a GATA, Nanog, Oct4,

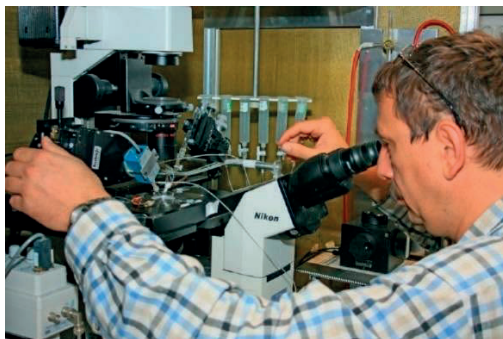
Sox2 őssejt markerek expresszióját is. Az ioncsatornák expressziójának vizsgálatát először molekuláris biológiai módszerekkel végeztük el, és a  $K^+$  csatornák közül a Kv1.3, Kv4.2, Kv4.3, Kv10.1, KCa1.1, a  $Na^+$  csatornák közül a Nav1.2 és Nav1.7 csatornák mRNS expresszióját mutattuk ki a cMSC populációkban. Egy eddig őssejtekben nem ismert csatorna jelenlétére is fény derült, a humán feszültségfüggő protoncsatorna (hHv1) expresszióját mutattuk ki. Az mRNS szinten kimutatott ioncsatornák közül elektrofiziológiai módszerrel (lásd fénykép, Dr. Szántó G. Tibor patch-clamp kísérletek közben) funkcionális expressziót Nav1.2, Kv10.1, KCa1.1 és hHv1 ioncsatornák esetén mutattunk ki. Terápiás szempontból rendkívül fontos csont differenciációs és migrációs képességét vizsgáltuk a cMSC-eknek a hHv1 csatorna gátlása mellett. Kimutattuk, hogy a hHv1 gátlószer (CIGBI) szignifikánsan csökkentette a sejtek életképességét, dózisfüggő módon befolyásolta a sejtek minerális mátrix

termelését mind a patológiás, mind a fiziológias csontosodási indukció során, valamint jelentősen gátolta a cMSC-k migrációját mind a sebgyógyulás során, mind pedig egyedi sejt szinten.

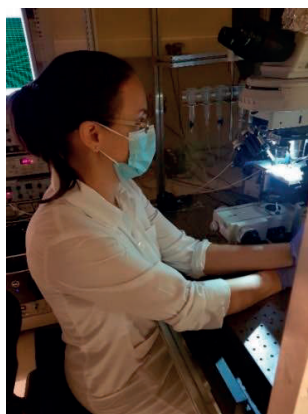
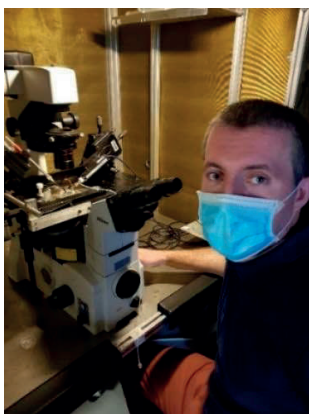
## Életrépek



Vörös Orsolya és Csóti Ágota prezentációja a Seillac meeting COST Action no. BM1406 konferencián, Tours, 2018. október 8-11.



Dr. Panyi György elektrofiziológiai vizsgálat közben.



Papp Ferenc, Zákány Florina elektrofiziológiai vizsgálat közben.

# Semmelweis Egyetem

Projektért felelős vezető: Dr. Varga Gábor

## Általános bevezető

A Semmelweis Egyetemen 2017. szeptembere óta végezzük a megkezdett munkát az adott projektekben. A vezető kutatók a pécsi nyitórendezvényen bemutatták a kutatómunkájuk céljait és tervezetét, illetve az együttműködések és technológia transzfer lehetőségeit. A Semmelweis Egyetem részéről Dr. Varga Gábor és Dr. Zsembéry Ákos tartott előadást a tervezett munkáról. A rendezvényen lehetőség volt közös megbeszélésekre, szakmai kapcsolatok erősítésére, és a pályázatban foglaltakat egészen szemlélni. A nyitórendezvényen történő aktív részvételen túl minden partnerrel megindítottuk az eredetileg is tervezett közös munkát. 2018. novemberében sikeres workshop-ot / minikonferenciát szerveztünk a projektben vállalt konzorciális célok előmozdítására, júniusban pedig a képzők képzése történt. A kitűzött célok mentén minden területen sikerült előrelépünk. 2017. decembertől elsősorban a konzorciális keretek között végzett meta-analízis vizsgálatokban történt jelentős előrelépés. Ez egy több hónapos folyamat, amelyet jelenleg is végzünk. 2018 nyarán teljesítettük a képzők képzése terén vállalt feladatainkat. Teljes publikáció formájában több pályázati munkánkhoz kapcsolódó kéziratunk nyert elfogadást és közzétét, továbbiak megjelenés alatt állnak, három bírálati szakaszban van. Több további kéziratot jelenleg is dolgozunk. 2018. szeptemberben sikeresen teljesítettük a pályázat első mérföldkövének elfogadásához szükséges követelményeket, 2019. február 28-ig a második mérföldkő teljesítésén dolgoztunk.

„Translational interactive hands-on training and conference on epithelial ion transport - EFOP-3.6.2-16-2017-00006” címmel a Semmelweis Egyetemen 2018. november 22-23-ára Budapesten nemzetközi részvétellel szakmai konferenciát rendeztünk. A konferencia során mintegy 60 a projekt témájához kapcsolódó felkért és bejelentett előadás hangzott el. Két témaközpontú szimpóziumot szerveztünk “Antibacterial and mucolytic therapy in cystic fibrosis” and “Research in oral cavity – from basic science to clinical use” címmel. Emellett gyakorlatokat is szerveztünk elsősorban a fiatal résztvevők képzését célozva. A konferencia során 3 meghívott külföldi tartott plenáris előadást - Dr. Martin Steward (University of Manchester, UK), Dr. Gang Wu (ACTA, Univ. Amsterdam) és Dr. Predrag Sikiric (Univ. Zagreb). Ezen túlmenően további 15 fiatal nemzetközi PhD hallgató és posztdoktor vett részt a konferencián. Mindösszesen a konferenciának 126 regisztrált és megjelent résztvevője volt, döntő többségükben karrierjük korai szakaszában lévő fiatalok,



jellemzően a jelen projekt konzorciumának valamelyik egyeteméről. Ezzel eredeti terveinket jelentősen túlteljesítettük. 2018. decemberében fiatal kutatók és oktatók képzésének folytatásaként Dr. Martin Steward (University of Manchester, UK), „visiting professor” vezetésével befejeztük az epiteliális transzportfolyamatok számítógépes modellezésébe bevezető kurzust. Projektünk keretében Dr. Székely Melinda (Marosvásárhelyi Orvosegyetem - University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Románia) 2019. március 22-29. között látogatást tett a Semmelweis Egyetemen. Ennek során előadást is tartott, amely elsősorban fiatal munkatársaink és hallgatóink képzését szolgálta. Mindezek az eredményeink jelen projektünk fontos elemeit képezik. A pályázat fontos célja, hogy a tudományos munkába a PhD-s és graduális hallgatókat és fiatal kutatókat is folyamatosan bevonjunk, ezt a tevékenységet is folyamatosan végezzük. Mind a szakmai, mind menedzsmenti oldalon intenzíven készültünk a projekt 2019. május 15-16-án, a Szegedi Tudományegyetemen történt ellenőrzésére, amely a tervezett időpontban sikeresen lezajlott. Ennek alapján a projekt keretében eddig végzett munkánk elfogadást nyert. 2019. június folyamán a legfontosabb megtartott esemény a 25-26-án megvalósult a képzők képzésének következő kurzusa. Emellett fontos szakmai előadásokat tartottunk Magyar Gasztroenterológiai Társaság és a Magyar Élettani Társaság konferenciáin. A Magyar Élettani Társaság több más társasággal megtartott FAMÉ konferenciáján sikeresen megtörtént az általunk szervezett szimpózium. Hegyi Péter professzor vetetésével sikeresen lezajlott az UEG Transzlációs Konferencia (Pécs, 2019. július 4-6.), ahol Varga Gábor professzor kiemelt előadást, Dr. Zsembery Ákos pedig szakmamódszertani bemutatót tartott.

A programhoz kapcsolódó hat PhD hallgatónk tett sikeres komplex vizsgát PhD, négy pedig fokozatot szerzett. Az Európai Unió COST szervezetéhez pályázatot nyújtottunk be. Nagy létszámban részt vettünk és előadásokat, illetve poszter bemutatókat tartottunk a International Association for Dental Research, Continental European Division konferencián Madridban. 2019. októberében a Szegeden megrendezésre került hazai fogorvos konferencián három PhD hallgatónk, Farkasdi Sándor, Czumbel Márk és Rácz Róbert tartott előadást az EFOP projekthez kapcsolódó munkájuk előre haladásáról. 2019. novemberében Varga Gábor professzor az IADR APR világkongresszuson tartott előadást és szolgált üléselnökként. A konferenciarésztvételek 2020-ban nagyrészt ellehetetlenültek. Mindezek ellenére mindösszesen 31 teljes közleményt jelentettünk meg és fiataljaink több mint 50 előadást tartottak. Számos munkánk kéziratán jelenleg is intenzíven dolgozunk, közlésekre küldést megalapozva.

## **Alprojekt-1 (SE): Humán erőforrás és egyéb kutatási kapacitások fejlesztése**

A projektnyitó rendezvényen a vezető kutatók bemutatták a kutatómunkájuk céljait és tervezetét, illetve az együttműködések és technológia transzfer lehetőségeit. A Semmelweis Egyetem részéről Dr. Varga Gábor és Dr. Zsembéry Ákos tartott előadást a tervezett munkáról. A rendezvényen lehetőség volt közös megbeszélésekre, szakmai kapcsolatok erősítésére, és a pályázatban foglaltakat egészben szemlélni. A pályázatban tervezett szakmai és projekt menedzsmenti humánerőforrás felállítása az SE-n megtörtént, a kapcsolódó munka időarányosan ezen keretek között történt. Ugyancsak a tervezett mértékben történt graduális és PhD hallgatók, valamint doktoranduszok és fiatal kutatók bevonása. A képzésekre nagy hangsúlyt fektettünk, megvalósítottunk egy szakmai workshopot, a tervezett képzők képzését. Aktívan szervezünk 2018. novemberére a teljes konzorcium oktatói, kutatói és hallgatói gárdája részére egy tudományos konferenciát. Aktívan végezzük a partnerek részére a nálunk felhalmozott tudás és technológiák transzferét.

A 2. mérőföldkő teljesítése során a Semmelweis Egyetem a pályázatban tervezett szakmai és projekt menedzsmenti humánerőforrás felállítása szinte teljes egészében megtörtént, a kapcsolódó munka időarányosan ezek között a keretek között történik. A tervezett mértékben léptünk előre a graduális és PhD hallgatók, valamint doktoranduszok és fiatal kutatók bevonása terén is. A képzésekre továbbra is nagy hangsúlyt fektettünk, manchesteri vendégprofesszorunk, Dr. Martin Steward vezetésével egy szakmai szemináriumsorozatot valósítottunk meg. Projektünk keretében nemzetközi részvétellel 2018. november 22-23-án a Semmelweis Egyetemen, Budapesten megszerveztük és lebonyolítottuk a „Translational interactive hands-on training and conference on epithelial ion transport - EFOP-3.6.2-16-2017-00006” szakmai konferenciát. A konferencia során mintegy 60, a projekt témájához kapcsolódó felkért és bejelentett előadás hangzott el. Két témaközponti szimpóziumot szerveztünk „Antibacterial and mucolytic therapy in cystic fibrosis” and „Research in oral cavity – from basic science to clinical use” címmel. Emellett gyakorlatokat is szerveztünk elsősorban a fiatal résztvevők képzését célozva. A rendezvényen lehetőség volt közös megbeszélésekre, szakmai kapcsolatok erősítésére, és a pályázatban foglaltakat egészben szemlélni. Aktívan végezzük a partnerek részére a nálunk felhalmozott tudás és rendelkezésre álló technológiák átadását.

Folytatva a korábban megkezdett kapacitásfejlesztést, 3. mérőföldkő teljesítése során a Semmelweis Egyetem a pályázatban tervezett szakmai és projekt menedzsmenti humánerőforrás felállítása szinte teljes egészében megtörtént. A



projektben kitűzött célokhoz kapcsolódó munka ezek között a keretek között időarányosan történik. A tervezett mértékben léptünk előre a graduális és PhD hallgatók, valamint doktoranduszok és fiatal kutatók bevonása terén is. Ez a munka folyamatosan folyik, tekintettel arra, hogy az egyes projektbe vont személyek szintjén a fejlesztés eredménye a projekt befejezésekor válik teljessé. A képzésekre továbbra is nagy hangsúlyt fektettünk, vezető kutatóink, köztük manchesteri vendégprofesszorunk, Dr. Martin Steward folyamatosan vezetnek konzultációkat, és végeznek tutoriális munkát. A fejlesztés fontos része, hogy a szenior munkatársak vezetésével a fiatal kutatók, PhD és graduális hallgatók tudása az elvégzett munka, illetve az ezek alapján elkészített riportok, prezentációk révén egyenletesen növekszik. Mindezek legfontosabb ellenőrző pontjai voltak az egyes szakmai konferenciák és kurzusok, amelyek során a pályázat résztvevői bemutatták munkájukat. Mindezek közül kiemelkedik az International Association of Dental Research, Central European Division kongresszusa Madridban, Spanyolországban. A rendezvényeken lehetőség volt közös megbeszélésekre, szakmai kapcsolatok erősítésére. Aktívan végeztük a partnerek részére a nálunk felhalmozott tudás és rendelkezésre álló technológiák átadását. Fentiek mellett 2019. június folyamán 14 fő részvételével képzők képzése kurzust tartottunk a projekt szakmai fejlesztési céljainak szolgálatára.

## **Alprojekt-2 (SE): Nemzetközi beágyazottság, nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés**

*Az 1. mérőföldkőig elért eredmények:* A Semmelweis Egyetem részéről a projekt első évében együttműködési szerződést kötöttünk a Wenzhou University-vel, közös kutatások indítására, továbbá fiatal kutatók és oktatók cseréjére. Az egyetemünk részéről együttműködési szerződést kötöttünk a Voronezh Egyetemmel elsősorban graduális hallgatók diákköri konferenciákhoz kapcsolódó csereutakra, illetve közös kutatási lehetőségek megnyitására. Vendégelőadást tartott az SE-n a rövid tanulmányútra ide érkező Dr. Gang Wu, akivel közös közleményünk revízió alatt áll, és közös európai pályázásra szándéknnyilatkozat szintjén meghívást kaptunk (ACTA, Amsterdami Egyetem). Benyújtottunk egy közös R01 NIH pályázatot 2018. júniusában, vezetője Dr. Pamela Den Besten (UCSF, San Francisco, USA) akivel a jelen pályázat keretei között már három közös közleményünk született. Emellett előkészítés alatt állt egy meghívásos NIH pályázat is, amelynek vezetője szintén Dr. Pamela Den Besten. Epteliális transzport témában saját költségén többször meglátogatott minket Dr. Martin Steward (Manchesteri Egyetem, Egyesült Királyság), akivel szintén közös közleményünk született. Terveink között szerepelt, hogy Dr. Martin Steward az SE-n

PhD hallgatóknak az őszi szemesztertől speciális, interaktív biomodellezési kurzust indít. A kurzus akkreditációt nyert. A bikarbonát mukolitikus, antibakteriális és antiinflammatorikus hatásának vizsgálata téma keretében legfontosabb nemzetközi partnerünk a CF kutatás kiemelkedő nemzetközi szaktekintélye, Dr. Paul M. Quinton (University of California, San Diego, USA).

*A második mérföldkőig elért eredmények:* Az általunk szervezett „Translational interactive hands-on training and conference on epithelial ion transport - EFOP-3.6.2-16-2017-00006” konferencia központi célja volt a nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés, s ehhez kapcsolódóan nemzetközi beágyazottságunk fokozása. A konferencia során 3 meghívott külföldi szakmai kiválóság tartott plenáris előadást - Dr. Martin Steward (Univ. Manchester), Dr. Gang Wu (ACTA, Univ. Amsterdam) és Dr. Predrag Sikiric (Univ. Zagreb). Mindannyiunkkal tovább folytatjuk a megkezdett együttműködést. Ezen túlmenően, 15 fiatal nemzetközi PhD hallgató és posztdoktor vett részt a konferencián. Mindösszesen a konferenciának 126 regisztrált és megjelent résztvevője volt, döntő többségükben karrierjük korai szakaszában lévő fiatalok, jellemzően a jelen projekt konzorciumának valamelyik egyeteméről. Ezzel eredeti terveinket jelentősen túlteljesítettük.

*A harmadik mérföldkőig elért eredmények:* Miután a pályázat kiíróinak kérésére kiegészítő információkat szolgáltatunk, közös, Dr. Pamela Den Besten (UCSF, San Francisco, USA) vezetésével benyújtott R01 NIH pályázatunk az NIH NIDCR (USA) pályázati adminisztrátorának tájékoztatása szerint elnyertük, 2019-i kezdéssel, várhatóan 4 éves futamidővel. Epiteliális transzport témában többször meglátogatott minket Dr. Martin Steward (Manchester Egyetem, Egyesült Királyság). Dr. Steward a Semmelweis Egyetemen PhD hallgatóknak és fiatal kutatóknak egy akkreditált, speciális, interaktív biomodellezési kurzust tartott az őszi szemeszter folyamán. A bikarbonát mukolitikus, antibakteriális és antiinflammatorikus hatásának vizsgálata téma keretében közös közleményünk született a CF kutatás kiemelkedő nemzetközi szaktekintélyével, Dr. Paul M. Quinton-nal (University of California, San Diego, USA).

Folytattuk az együttműködés erősítését a korábbiakban megindított irányokba, s ezeken túlmenően új együttműködés alapjait vetettük meg EU COST pályázatunkkal. Az az előző projektciklusban szervezett „Translational interactive hands-on training and conference on epithelial ion transport - EFOP-3.6.2-16-2017-00006” konferencia központi célja a nemzetközi kutatási együttműködések erősítése, hálózatépítés, s ehhez kapcsolódóan nemzetközi beágyazottságunk fokozása volt. Az ott meghívott előadóként szerepelt kiemelkedő külföldi kutatókkal tovább folytatjuk az együttműködést, közülük is különösképpen Dr. Martin Steward (University of Manchester, UK), Dr. Gang Wu (ACTA, Univ. Amsterdam) és Dr. Predrag Sikiric (Univ. Zagreb) professzorokkal. Ezen túlmenően, fiatal PhD hallgatóink és posztdoktoraink

nemzetközi konferenciákon 16 előadást tartottak a projekt támogatásával a 3. Mérföldkő teljesítése során.

*A negyedik mérföldkőig elért eredmények:* 2019-i kezdéssel, 4 éves futamidővel Dr. Pamela Den Besten (UCSF, San Francisco, USA) vezetésével az R01 NIH pályázatunk (NIH NIDCR, USA) keretében folytattuk a nemzetközi együttműködést. A bikarbonát mukolitikus, antibakteriális és anti-inflammatórikus hatásának vizsgálata téma keretében közös közleményünk alapján tovább folytattuk az együttműködést a CF kutatás kiemelkedő nemzetközi szaktekintélyével, Dr. Paul M. Quinton-nal (University of California, San Diego, USA).

Varga Gábor és Windisch Péter professzorok szakmai vezetésével meghívást nyertük egy beadásra kerülő EU – COST projektbe. Ennek alapján társpályázóként a 2020. végén benyújtották a COST „Innovation of biomaterials for skeletal reconstitution in osteoporosis and other skeletal diseases– Bioanyagok innovatív kutatása a keményszöveti szerkezetek rekonstrukciójára oszteoporózisban és más betegségekben” című pályázatot. 2020 során is intenzíven műveltük nemzetközi együttműködéseinket.

### **Alprojekt-3 (SE): Nemzetközi hálózatosodást és beágyazódást segítő alapkutatási tevékenységek**

Az Semmelweis Egyetem projektben részt vevő kutatói 31\*, az MTMT-ben már regisztrált *in extenso* közleményt értek el a PTE, SZTE és DE kutatóival együttműködve. Ezen túlmenően 10\* nemzetközi folyóirathoz elküldött közleményünk bírálat alatt áll, további 10\* kézirat, köztük 5\* meta-analízisen alapuló beküldés előtt áll, és fiatal kutatóink több mint 50\* prezentációt tartottak különböző konferenciákon. Több további kéziratot jelenleg is dolgozunk.

### ***Gastroenterológia***

*Dr. Zsembery Ákos által vezetett kutatások - A bikarbonát mukolitikus, antibakteriális és anti-inflammatórikus hatásának vizsgálata – új terápiás eljárások fejlesztése krónikus tüdőbetegségekben*

CF-ban sűrű, viszkózus nyák termelődik, amely hozzájárul a légutak elzáródásához és kedvező feltételeket teremt bizonyos baktériumok kolonizációjához, mely végeredményben krónikus gyulladásához és a tüdőszövet pusztulásához vezet. A sűrű nyák lassítja a lumen felől ható gyógyszerek diffúzióját és rontja hatásfokukat. A nyák viszkozitásának csökkentése és a baktériumok kolonizációjának gátlása terápiás

---

\* 2020. októberi adatok alapján (a pályázat végéig ez változhat)

jelentőséggel bírhat. Ismert, hogy a légúti folyadékfilm (LFF) bikarbonát tartalmának és pH-jának csökkenése kulcsszerepet játszik a nyákban található mucin adhezivitásának fokozódásában és az LFF antibakteriális hatásának csökkenésében. Eredményeink igazolják, hogy a bikarbonát mind a konvencionális mikrobiológiai médiumban, mind a CF-es LFF összetételét modellező mesterséges köpet médiumban gátolja a baktériumok (*P. aeruginosa* és *S. aureus*) növekedését és biofilm képző képességét. A bikarbonát hatása a 25-100 mM tartományban koncentráció-függőnek bizonyult és független a pH és az ozmotikus viszonyok változásától. A baktériumok membrán-integritását vizsgálva arra a következtetésre jutottunk, hogy a bikarbonát megnöveli a sejtmembrán permeabilitását, ami hozzájárulhat a bakteriosztatikus hatás kialakulásához. A bikarbonát hatásmechanizmusának feltárására vizsgáltuk a *P. aeruginosa* intracelluláris másodlagos hírvívó molekuláinak (cAMP és c-di-GMP) koncentráció változásait is. Megállapítottuk, hogy a bikarbonát koncentráció-függő módon növeli az intracelluláris cAMP és csökkenti a c-di-GMP szintet. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a bikarbonát specifikusan szabályozza a baktériumok „életformáját”. Ez azt jelenti, hogy a bikarbonát elősegíti a planktonikus létformát, miközben gátolja biofilm képződést. Klinikus kollégákkal együttműködve gyűjtöttük CF betegek köpetét és beállítottunk egy módszert, melynek segítségével vizsgáltuk azok viszkoelasztikus tulajdonságait. Megállapítottuk, hogy a bikarbonát befolyásolja a CF köpetek reológiai tulajdonságait, bár az eredmények igen nagy szórást mutattak, ami összefügghet a betegség tüneteinek súlyosságával. Egy terápiás eljárás fejlesztésénél kulcskérdés a biztonságos alkalmazhatóság. Ezért tengerimalacokban *in vivo* vizsgáltuk a nyolc héten keresztül belélegeztetett hipertóniás (8,4%)  $\text{NaHCO}_3$  aeroszol hatásait. A kezelés nem rontotta a funkcionális légzési paramétereket és nem okozott pH emelkedést sem a vérplazmában, sem a vizeletben. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a  $\text{NaHCO}_3$ -tartalmú aeroszol belélegeztetése terápiás jelentőséggel bírhat CF-ban és más krónikus gyulladással járó tüdőbetegségekből.

#### Dr. Lohinai Zsolt által vezetett kutatások

Kashidid Ruksakiet PhD hallgatóval, a Semmelweis Egyetem Oralbiológiai Tanszékének és a Pécsi Tudományegyetem Transzlációs Medicina Intézet segítségével randomizált klinikai vizsgálatok irodalmi adatainak összefoglalásával és meta-analízisével megvizsgáltuk, hogy az endodonciában a két világszerte leggyakrabban használt dezinficiáló oldat, a nátrium-hipoklorit és a klórhexidin közül melyik a hatékonyabb dezinficiens klinikai körülmények között. A 4 orvosi adatbázisból kigyűjtött 2110 publikációból végül csak 8 vizsgálat volt statisztikailag felhasználható. Ezek feldolgozása azt mutatja, hogy tenyésztéses, vagy a molekulárbiológiai baktérium azonosítás esetén sincs statisztikai különbség az irrigációk után a még

baktériumokat tartalmazó fogak incidenciájában és az átlagos baktériumszám csökkenésében sem. Az azonos hatékonyság, de az eltérő hatásmechanizmus és az egyéb kedvező egyedi tulajdonságaik miatt felmerül e két dezinficiens egymás utáni alkalmazása a klinikai hatékonyság további növelésének érdekében.

Másik vizsgálatunkban a fogágygyulladás kialakulásában szerepet játszó *Eikenella corrodens* baktérium lizindekarboxiláz exoenzimét blokkoltuk az újabb szájhigiénés termékekben reneszánszát élő cink ionokkal. A cink ionok gátolják a lizindekarboxiláz termelődését valószínűleg az N-terminális ciszteinejéhez való kötődésük miatt és ezáltal az enzim polipeptidjeinek összeállása zavart szenved.

Jelenleg egy összefoglaló írása van folyamatban amerikai kutató kollégával közösen a kadaverin és a vajsav diszbiotikus szerepéről a szájüregben, annak ellenére, hogy az emésztőcsatorna többi szakaszában ezek a molekulák probiotikus hatásúak. Ennek a paradoxonnak az emberiség nagy részét érintő fogágygyulladás kezelésében gyakorlati jelentősége van.

#### Dr. Gerber Gábor által vezetett kutatások

Kutatócsoportunk az ideg- és immunrendszer kölcsönhatását vizsgálja gyulladásos folyamatokban, fájdalom szindrómákban. A projekt keretében a tájföldi Naresuan egyetemről érkezett doktorandusz hallgatóval, Wuttapon Sadaenggel és a projektben résztvevő kollégákkal a metaanalízis keretében vizsgáltuk a GABA származékok hatékonyságát a herpes zoster fertőzést követő akut fájdalom kontrolljában. Megállapítottuk, hogy a GABA származékok hatékonyan csökkenthetik a herpes zoster okozta fájdalmat a tünetek megjelenését követő első hónapban, bár további vizsgálatok szükségesek ennek megerősítésére.

A laborunkban kifejlesztett steril pulpitis modell segítségével az ideg- és immunrendszer interakciójának mechanizmusát tanulmányozzuk elsősorban morfológiai, hisztokémiai módszerekkel patkány moláris fogaiban. CED-IADR 2019 konferencián Wuttapon Sadaeng "Travel Awards" díjat nyert az „Influence of Sensory and Autonomic Denervation on Pulp CGRP Level” absztrakttal.

#### Dr. Varga Gábor által vezetett kutatások

A pályázathoz kapcsolódóan vizsgáltuk a mesenchimális őssejt kultúrák oszteogén és neurogén differenciálódásának, a szövetépítéshez szükséges bioaktív komponensek megfelelő arányát. Az összeintegráció preklinikai modellezése során egy fundamentálisan új, komplex integrációs modellrendszer kifejlesztését bemutató közleményünk a szakterület egyik világviszonylatban is vezető Q1 minősítésű folyóiratában 2019. folyamán nyert teljes bibliográfiájú közlést. Ezt a munkát a modellrendszer alkalmazása követte, amelynek során legfontosabb megfigyelésünk,

hogy a titán és cirkónium implantátumok és a környező csont közötti kötődés erőssége biomechanikai szempontból legalább kétszer nagyobb titán alkalmazása esetén. Az általunk kidolgozott emberi fogból és parodontális ligamentum eredetű őssejt kultúrák differenciálódási, túlélési, osztódási és önszerveződési képességét tovább tanulmányoztuk bioaktív szignalizációs molekulák segítségével. Tovább munkálkodtunk *in vitro* tesztrendszereink optimalizálásán az őssejt kultúrák csontirányú és neuroregenerációs felhasználhatóságát célozva. Ezen túl, tovább folytattuk a preklinikai vizsgálatokat, amelynek során újonnan kifejlesztett modellrendszereinkben tanulmányozzuk a poliaszparaginsav és hialuronsav alapú hidrogélek alkalmazhatóságát az összeintegrációs és csontregenerációs folyamatokban. Eredményeink szerint a hialuronsav alapú készítmények nem csak preklinikai tesztrendszerekben, de akár humán parodontális elváltozások esetén is elősegíthetik a regenerációt. Az összeintegráció modellezésének hasznosítása tekintetében egy új, több hónapos vizsgálatsorozatot folytattunk, együttműködésben a PTE kutatóival, részükről ezen a területen Dr. Helyes Zsuzsanna vezetésével egy ígéretes bioregenerációs peptid, a BPC157 alkalmazásával, amelyet horvát kollaborációs partnerünk, Dr. Predrad Sikiric fejlesztett ki és jellemzett korábban különböző betegségmodellekben.

Kutatásaink másik fókuszában a fogzománc kialakulásának direkt molekuláris élettani vizsgálata céljából dolgoztunk egy új *in vitro* vizsgálati tesztrendszer optimalizálásán. A HAT-7 ameloblaszt sejtvonalat felhasználva létrehozott kétdimenziós funkcionális modellben jellemeztük a transzport folyamatokat. A szoros sejtkapcsolatok kialakulását, egyes ion transzporterek lokalizált aktivitását, a sejtek bikarbonát transzportját és életképességét optimalizáló vizsgálatokat végeztünk. Modellünk további fejlesztés során alkalmassá válhat a zománcépződés molekuláris mechanizmusainak funkcionális vizsgálataira. Mindezekhez kapcsolódik a TRPM7 csatorna kalcium transzportot szabályozó hatásának vizsgálata, amely áttörést hozhat a zománcépződés folyamán lejátszódó kalcium elválasztás mechanizmusának megértésében. A TRPM7 ioncsatorna jellemzését a csatornát szelektíven aktiváló és blokkoló készítmények alkalmazásával végeztük, mikrofluorometriás és patch clamp elektrofiziológiai technológiák kombinált alkalmazásával. Dr. Martin Steward mellett Dr. Pamela Den Besten bevonásával megkezdtuk ebben a témában az első közleményünk összeállítását PhD és egyetemi hallgatók közreműködésével. Sikeresen folytattuk a patkány metszőfogak epitheliális progenitor zónájából készített primer ameloblast kultúrák differenciáltatását az organoid kultúrák kialakításához feltétlenül szükséges Matrigel szövetkivonat alkalmazásával. Az SZTE munkatársaival, elsősorban részükről Dr. Venglovecz

Viktória tudományos főmunkatárs vezetésével megkezdjük a fogzománceredetű sejtekből és HAT-7 sejtvonalból az organoid kultúrák kialakításához szükséges módszertan részletes kidolgozását.

Fentiek mellett az EFOP pályázat keretein belül, célul tűzte ki a zománc mineralizációjában, knock-out egér modellek alapján feltehetően szerepet játszó egyes elektrogén kalcium transzportfehérjék és klorid csatornák, valamint a divalens kationokra ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) permeabilis tranzien receptor potenciál melasztatin (TRPM7) vizsgálatát patch clamp elektrofiziológiai módszerrel, whole cell konfigurációban, pár napos patkány metszőfogból izolált és létrehozott ún. HAT-7 preameloblaszt sejtvonalon. Méréseink során először igazoltuk funkcionális, pH függő módon működő, a  $\text{Ca}^{2+}$  transzportban szerepet játszó TRPM7 jelenlétét a HAT-7 sejteken. Kísérleteink során továbbá arra is kerestük a választ, hogy a HAT-7 sejtek által végzett  $\text{Cl}^-$  permeabilitás szabályozásában milyen típusú csatornák vesznek részt. Vizsgáltuk a  $\text{Ca}^{2+}$  aktiválta  $\text{Cl}^-$  csatornák és a cAMP aktiválta CFTR klorid ioncsatornák működését ezekben a sejtekben, eredményeinkben viszont egyelőre szignifikáns különbség nem mutatkozott, így további vizsgálatok szükségesek.

A 2019-es koronavírus-betegség azaz a COVID-19, amelyet a SARS-CoV-2 vírus okoz, súlyos fertőző betegség. A betegség tünetei általában nem specifikusak, és nem minden esetben kíséri láz, köhögés, légszomj és fáradtság. Ezek sok szezonális vírus esetében ugyancsak gyakoriak, ami nehezíti a diagnózist. Számos diagnosztikai vizsgálat már rendelkezésre áll a vírus kimutatására, ezek közül is felső légutakból történő kenetgyűjtés, majd ebből RT-PCR alkalmazásával a vírus jelenlétének molekuláris biológiai azonosítása a jelenleg alkalmazott sztenderd procedúra. Ez azonban minden egyes esetben képzett egészségügyi személyzet beavatkozását igényli a minta gyűjtéséhez, amely magában foglalja a fertőzés jelentős veszélyét. Ezért ez a teszt nem szolgáltat optimális feltételeket széles körű szűrővizsgálatok gyors elvégzésére. Kutatásaink során meta-analízis módszerrel összehasonlítottuk az azonos páciensekből származó felső légúti kenetek RT-PCR eredményeit a köpet/nyál gyűjtésével nyert minták RT-PCR eredményeivel. „*In silico*” munkánk során bizonyítékokat szolgáltatunk arra, hogy a nyálteszt ígéretes alternatívája a nazofaringeális teszteknek a COVID-19 diagnózisához. Saját előzetes klinikai eredményeink is ebbe az irányba mutatnak. A jövőben az optimalizált és validált nyálvizsgálatok lehetőséget kínálnak a COVID-19 nem-invazív és gyors azonosítására. Számos nyitott kérdésre azonban választ kell adni, mindenekelőtt meg kell határozni a nyálon alapuló vizsgálatok pontos specifitását és érzékenységét. Ezt követően reményeink szerint a megfelelően szabványosított nyáldiagnosztikai eljárások helyet kaphatnak a klinikai gyakorlatban is.



## Képek az EFOP pályázat kapcsán támogatott rendezvényekről, kutatókról és csoportokról











## A konzorcium indikátor vállalásai

A konzorcium minden mérőföldkő esetében teljesítette a kitűzött indikátor célértékeket (lásd az alábbi táblázat), és a konzorciumi tagok visszajelzései alapján 2020.11.29.-ig a projekt zárásig elérendő célértékek mindegyike 100%-ban teljesül. Az indikátor tényadatok és azok alátámasztói dokumentumainak bekérése és ellenőrzése folyamatban van, a végleges indikátor tényadatok a záró beszámolóban kerülnek lejelentésre.

Részmutató neve	Részmutató kumulált célértéke
<b>SZE_1.</b> Kutatói utánpótlást támogató programokba bevont új résztvevők száma	<b>19</b>
<b>SZE_2.</b> A projektben közreműködő fiatal kutatók száma összesen	<b>19</b>
<b>SZE_3.</b> A projektben közreműködő azon fiatal kutatók, akik esetében formális „szintlépés” vagy nemzetközi díj elnyerése történik.	<b>4</b>
<b>SZE_4.</b> Támogatott hazai és nemzetközi tudományos konferencia-előadás tartások száma	<b>80</b>
<b>SZE_5.</b> Újonnan kialakított vagy új kutatási együttműködési tartalommal bővült hazai felsőoktatási intézmény – külföldi felsőoktatási intézmény, kutatóhely, közgyűjtemény (vagy egyéb szervezeti) együttműködések száma.	<b>10</b>
<b>SZE_6.</b> EU / EGT tagállamokból származó illetve Kárpát-medencei felsőoktatási vendégkutatók száma	<b>51</b>
<b>SZE_7.</b> A projekt során elért potenciális Horizont 2020 együttműködő partnerek száma	<b>20</b>
<b>SZE_8.</b> K+F+I célú és tartalmú, kutatás menedzsment és kutatási készségfejlesztési képzésekben, tréningeken részt vettek száma	<b>130</b>
<b>SZE_9</b> A felhívás 4.1 pontja szerint támogatott felsőoktatási intézmény kevésbé fejlett régióban található székhelyen vagy telephelyen működő intézményi (kar)5 szinten létrejött publikációk száma (mind magyar, mind idegen nyelvű, mind hazai, mind külföldi folyóirat, peer review kiadvány)	<b>271</b>
<b>SZE_10</b> A felhívás 4.1 pontja szerint támogatott felsőoktatási intézmény kevésbé fejlett régióban található székhelyen vagy telephelyen működő intézményi (kar) szinten létrejött idegen nyelvű cikkek száma (Idegen nyelvű cikkek hazai folyóiratokban + Idegen nyelvű cikkek külföldi folyóiratokban együttesen)	<b>232</b>
<b>OP indikátor</b> Kutatói utánpótlást támogató programokban résztvevők száma (fő)	<b>66</b>

*Táblázat: A konzorciumi pályázat során vállalt indikátor értékek*



A kiadvány az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával készült, az EFOP-3.6.2-16-2017-00006 „LIVE LONGER - Modern orvostudományi diagnosztikus eljárások és terápiák fejlesztése transzlációs megközelítésben: a laboratóriumtól a betegágyig” című pályázat keretében.





**SZÉCHENYI** 



MAGYARORSZÁG  
KORMÁNYA

Európai Unió  
Európai Szociális  
Alap



**BEFEKTETÉS A JÖVŐBE**